

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS PECUARIAS**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL SEMEN COMERCIAL POST  
DESCONGELACIÓN, UTILIZADO EN PROGRAMAS DE  
INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN GANADO BOVINO DE CARNE**

**FEDERICO DAVIS MUÑOZ**

**8-781-1298**

**DAVID, CHIRIQUÍ**

**REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**2008**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL SEMEN COMERCIAL POST  
DESCONGELACIÓN, UTILIZADO EN PROGRAMAS DE  
INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN GANADO BOVINO DE CARNE**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN SOMETIDA PARA OBTENER EL  
TITULO DE INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA.**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS PECUARIAS**

**PERMISO PARA SU PUBLICACIÓN, REPRODUCCIÓN TOTAL O  
PARCIAL DEBE SER OBTENIDA DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS AGROPECUARIAS.**

**APROBADO:**

**Ing. Pedro Guerra MSc.**

\_\_\_\_\_  
**DIRECTOR**

**Dr. Reynaldo De Armas PHd.**

\_\_\_\_\_  
**ASESOR**

**Dr. Nelson Santamaría**

\_\_\_\_\_  
**ASESOR**

**DAVID, CHIRIQUÍ**

**REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**2008**

## AGRADECIMIENTO

Primero debo agradecer a Dios, por darme el don de la sabiduría y el permitir vivir cada día.

A mis padres Federico y Leyda a cuales debo todo, gracias por darme la luz de la vida, mis hermanas Kayra y Ecaterina que han servido de compañía en el recorrer de mi infancia.

A mis abuelos Pura, Lilia, Marcelino y Ursus, al igual que mi nana Pastora y Juan, por darme tanto cariño, los quiero!

Agradezco al personal del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de Panamá-Gualaca, Centro Experimental Carlos Manuel Ortega, por todo su valioso apoyo, en especial al doctor Said Caballero quien es un gran maestro y amigo, a mi director de tesis Ing. Pedro Guerra, al señor Olegario Ibarra por toda su colaboración, la Licenciada Milagros De gracia por cada uno de sus consejos, Ingeniero Audino Melgar por facilitar su laboratorio y brindarme ayuda al igual que el señor Ulises Barroso y Alexis Carreño en las prácticas de campo. Por los análisis de datos agradezco al Ing. Roderick González, Ing. Raúl De León y al profesor Dr. José Ramón Bins Mil gracias.

Debo agradecer infinitamente la ayuda otorgada por los especialistas Esteban Balla y Jorge Cabodevila del Instituto de Reproducción Animal de Córdoba, la Dra. María Verano de la Universidad Nacional de La Plata Argentina como también el Doctor Joaquín Gadea de la Universidad de Murcia en España, quienes muy cordialmente me ayudaron a despejar muchas incógnitas.

A mis hermanos Agustín Palma, Marlon Delgado, Houdinis Rodríguez, Milciades Camargo, Yatzary Ortiz, Osiris Aízprua, Benigno Osorio, Julio Barrios, Yanisel Fernández... y a todos aquellos que compartieron clases y amistad en la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

***Federico Davis Muñoz.***

## DEDICATORIA

De todo corazón quiero dedicarles la culminación de este primer logro profesional a mí Papá Federico Davis y a mi Mamá Leyda Esther de Davis y al gran amor de mi vida Zuleima Lisbeth Arrue.

A toda mi familia que con mucho amor, esmero y dedicación, ha logrado cultivar, grandes personas para este país.

***Federico Davis Muñoz.***

## **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL SEMEN COMERCIAL POST DESCONGELACIÓN, UTILIZADO EN PROGRAMAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN GANADO BOVINO DE CARNE.**

Davis M F. 2008. Evaluación de la calidad del semen comercial post descongelación, utilizado en programas de inseminación artificial en ganado bovino de carne. Tesis Ing. Agrónomo Zootecnista, Panamá, FCA, 159 p.

### **RESUMEN**

La evaluación se basó en determinar diferencias en cuanto a calidad o viabilidad del semen al descongelado entre fuentes distribuidoras y entre las razas bovinas utilizadas en los sistemas de cría. Se procedió a evaluar la viabilidad post descongelación (motilidad y vigor espermático) en una prueba de termo resistencia de dos horas, la concentración espermática, el número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis inseminante a la cero y dos horas post descongelación del semen, las patologías espermáticas primarias y secundarias, además del número de espermatozoides vivos y muertos al descongelado.

La comparación entre fuentes distribuidoras de semen congelado bovino comercial no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) para el número de espermatozoides vivos y muertos, la motilidad y el vigor a la cero y dos horas post descongelado, patologías primarias y secundarias. Se observó diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ) sólo en la concentración espermática y la motilidad progresiva a la cero y dos horas. La comparación entre las razas pertenecientes a la fuentes 2 y 4, arrojó que existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) para todas las variables en observación.

Logramos corroborar que las fuentes distribuidoras, como la mayoría de las razas evaluadas, cumplieron con los estándares o normas ISO 9002 para la calidad de semen comercial post descongelación.

**PALABRAS CLAVES:** viabilidad post descongelación, motilidad, vigor, patologías espermáticas, fuentes, razas.

## INDICE DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
<b>AGRADECIMIENTO.....</b>	<b>III</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>V</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO.....</b>	<b>VII</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>XII</b>
<b>INDICE DE GRÁFICAS.....</b>	<b>XIV</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS.....</b>	<b>XVII</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Anatomía y Fisiología de los Órganos Genitales Masculinos.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1. Desarrollo y Formación de los Nemaspermos.</b>	
<b>Espermiogénesis.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.2. Proceso de la Espermiogénesis.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.2.1. Fases y Tipos Celulares.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.3. Formación del Nemaspermo.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2. Desarrollo del Sistema Acrosomal (capuchón cefálico).....</b>	<b>23</b>
<b>2.3. Formación de la Vagina Caudal.....</b>	<b>25</b>

<b>2.4. Desarrollo del Sistema Locomotor.....</b>	<b>26</b>
<b>2.5. Inicio de la Espermiogénesis.....</b>	<b>27</b>
<b>2.6. Capacidad Productora del Parénquima Testicular.....</b>	<b>29</b>
<b>2.7. Causas de las Anormalidades Espermáticas.....</b>	<b>30</b>
<b>2.8. Clasificación de las Anormalidades Espermáticas.....</b>	<b>38</b>
<b>2.9. Evaluación Viabilidad Post Descongelación.....</b>	<b>44</b>
<b>2.10. Efecto del Congelado y el Descongelado sobre las Células</b>	
<b>Espermáticas.....</b>	<b>48</b>
<b>2.11. Manejo del Semen</b>	<b>50</b>
<b>Congelado.....</b>	
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>51</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>61</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>145</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>146</b>
<b>VII. REFERENCIAS CITADAS.....</b>	<b>147</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>150</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		Pág.
I	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS SOBRE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.....	61
II	COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES DISTRIBUIDORAS, PARA LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.....	63
III	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA (DATOS TRANSFORMADOS LOGARÍTMICAMENTE) DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.....	65
IV	COMPARACIONES DE MEDIAS CUADRADAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES DISTRIBUIDORAS DE SEMEN PARA LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA TRANSFORMADA LOGARÍTMICAMENTE SEGÚN PRUEBA DE LSD.....	67
V	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.....	72
VI	COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES EVALUADAS PARA LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE AGRUPAMIENTO LSD	73
VII	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS OBTENIDOS DEL VIGOR ESPERMÁTICO A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.....	77
VIII	COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES EN ESTUDIO, PARA EL VIGOR ESPERMÁTICO A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.....	79

IX	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS SOBRE LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN MANTENIDO EN BAÑO MARÍA A TREINTA Y SIETE GRADOS CENTÍGRADOS.....	84
X	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS SOBRE LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN MANTENIDO EN BAÑO MARÍA A TREINTA Y SIETE GRADOS CENTÍGRADOS.....	85
XI	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DEL VIGOR ESPERMÁTICO A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN MANTENIDO EN BAÑO MARÍA A TREINTA Y SIETE GRADOS CENTÍGRADOS.....	92
XII	COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL VIGOR ESPERMÁTICO DE LAS FUENTES DISTRIBUIDORAS, A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.....	93
XIII	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE MOTILIDAD PROGRESIVA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.....	99
XIV	COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES CON MOTILIDAD PROGRESIVA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.....	100
XV	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DEL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES CON MOTILIDAD PROGRESIVA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.....	106
XVI	COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES CON MOTILIDAD PROGRESIVA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO COMERCIAL DE LAS FUENTES EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD	107

<b>XVII</b>	<b>ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ESPERMATOZOIDES VIVOS AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO COMERCIAL EN EVALUACIÓN.....</b>	<b>112</b>
<b>XVIII</b>	<b>COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES VIVOS AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.....</b>	<b>113</b>
<b>XIX</b>	<b>ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ESPERMATOZOIDES MUERTOS AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.....</b>	<b>118</b>
<b>XX</b>	<b>ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ESPERMATOZOIDES MUERTOS (TRANSFORMADOS LOGARÍTMICAMENTE) AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO COMERCIAL EN EVALUACIÓN.....</b>	<b>119</b>
<b>XXI</b>	<b>COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES MUERTOS TRANSFORMADOS LOGARÍTMICAMENTE AL MOMENTO DEL DESCONGELADO EL SEMEN BOVINO COMERCIAL, SEGÚN PRUEBA DE LSD.....</b>	<b>121</b>
<b>XXII</b>	<b>ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS PRIMARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.....</b>	<b>126</b>
<b>XXIII</b>	<b>COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA LAS ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS PRIMARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN SEGÚN PRUEBA DE LSD.....</b>	<b>128</b>
<b>XXIV</b>	<b>ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS SECUNDARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO COMERCIAL EN EVALUACIÓN.....</b>	<b>134</b>
<b>XXV</b>	<b>COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA LAS ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS SECUNDARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.....</b>	<b>136</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		Pág.
1	<b>Componentes del Sistema Reproductor Masculino, (Holy, 1970) .....</b>	4
2	<b>Corte Vertical Frontal del Saco Escrotal. 1. Testículos; 2. Cabeza del Epidídimo; 4. Cordón Espermático; 5. Cavidad Vaginal; 6. Túnica Vaginal Propia; 7. Túnica Vaginal Común; 8. Músculo Cremaster Externo; 9. Fascia Escrotal; 10. Túnica Dartos; 11. Piel; 12. Músculo Recto del Abdomen; 13. Peritoneo Abdominal; 14. Tabique Mediano; 15. Canal Inguinal; 16. Túnica Albugínea, (Holy, 1970) .....</b>	5
3	<b>Corte Horizontal (Transversal) de los Testículos del Toro. 1. Epidermis; 2. Corium; 3. Túnica Dartos; 4. Túnica Vaginal común; 5. Túnica Albugínea; 8. Testículo Derecho; 9. Testículo Izquierdo; 10. Cuerpo del Epidídimo; 11. Vasos Sanguíneos; 12. Conducto Deferente; 13. Tabique Escrotal; 14. Tejido Graso; 15. Mediastino del Testículo, (Holy, 1970) .....</b>	6
4	<b>Túbulos Seminíferos en el Testículo Bovino (Holy, 1970) .....</b>	7
5	<b>Relaciones Entre las Células Germinales y las Células de Sertoli, (Holy, 1970) .....</b>	9
6	<b>Vista Lateral del Pene del Toro. 1. A. Vista Dorsal; 2. Cuerpo Cavernoso del Pene; 3. Uretra; 4. Cuerpo Esponjoso del Pene; 5. Retractor; 6. Prepuccial Craneal; A y B, Señalan los Lugares de las Secciones Transversales, (Tríbulo y col, 2007) .....</b>	13
7	<b>Formación de los Gametos Sexuales o Gametogénesis, (Derivaux, 1967) .....</b>	16

8	Proceso de la Espermiogénesis normal y de la perturbada. Sg. Espermiogonias de todos los tipos (A-B). I. Espermiocitos primarios. II. Espermiocitos secundarios. S. Espermatídes, según Knudsen (1954) citado por Holy (1967) .....	18
9	Estructura Microscópica del Nemaspermo del Toro. 1. Gránulo Acrosomal. 2. Membrana Celular del Citoplasma de las Células de Sertoli. 3. Membrana Celular. 4. Membrana Externa Vacuolar. 5. Membrana Interna Vacuolar. 6. Núcleo. 7. Membrana Nuclear. 8. Vagina caudal. 9. Anillo Perinuclear. 10. Centríolo Proximal. 11. Centríolo Distal. 12. Fibra Axial. 13. Gránulos Basales. 14. Espirales de Mitocondrias. I. Cabeza. II. Cuello. III. Parte Intermedia. IV. Cola. V. Final de la Cola, (Adaptado según varios autores) citado por Holy (1970) .....	21
10	Espermatozoide con Ilustración del Origen de Varias Partes de su Cuerpo en Comparación con una Espermatíde. 1. Mitocondrias. 2. Centríolos. 3. Gránulos Acrosómico. 4. Vacuola Acrosómica. 5. Núcleo, (Holy, 1970) .....	22
11	Características de un Espermatozoide Bovino Maduro Normal, (Hafez, 1996) .....	23
12	Esquema de la Espermiogénesis (Desarrollo del Nemaspermo de la Espermatíde). 1. Mitocondrias. 2. Centríolos. 3. Gránulo Acrosómico. 4. Vacuola Acrosómica. 5. Núcleo, (Holy, 1967) .....	25
13	Filamento Axial del Nemaspermo, (Rodríguez, 1974)..	27
14	Estructura Espermatozoide Bovino Normal, (Rodríguez, 1974) .....	35
15	Zona de Peligro en el Tanque, (Selk, 2002) .....	50
16	Forma Correcta de Hacer la Extensión del Semen sobre el Portaobjeto.....	55

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>GRÁFICA</b>		<b>Pág.</b>
<b>1</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 2, para la concentración espermática (transformada logarítmicamente) del semen comercial.....</b>	<b>68</b>
<b>2</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la concentración espermática (transformada logarítmicamente) del semen congelado bovino.....</b>	<b>70</b>
<b>3</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad espermática a la cero hora post descongelado el semen bovino en evaluación.....</b>	<b>74</b>
<b>4</b>	<b>Comparación de medias porcentuales mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la motilidad espermática a la cero hora post descongelado el semen bovino comercial en evaluación.....</b>	<b>76</b>
<b>5</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el vigor espermático post descongelado el semen bovino en evaluación.....</b>	<b>80</b>
<b>6</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el vigor espermático post descongelado el semen bovino en evaluación.....</b>	<b>82</b>
<b>7</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad espermática a las dos horas post descongelación del semen bovino en evaluación.....</b>	<b>87</b>

<b>8</b>	<b>Comparación de medias mínimas porcentuales cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la motilidad espermática a las dos horas post descongelado, del semen bovino comercial en evaluación.....</b>	<b>90</b>
<b>9</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el vigor espermático dos horas post descongelado el semen bovino en evaluación.....</b>	<b>95</b>
<b>10</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el vigor espermático dos horas post descongelado el semen bovino en evaluación.....</b>	<b>96</b>
<b>11</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad progresiva a la cero hora post descongelado, del semen bovino en evaluación.....</b>	<b>102</b>
<b>12</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el número de espermatozoides con motilidad progresiva a la cero hora post descongelado el semen bovino comercial en evaluación.....</b>	<b>104</b>
<b>13</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad progresiva a las dos horas post descongelado, del semen bovino en evaluación.....</b>	<b>109</b>
<b>14</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la motilidad progresiva a las dos horas post descongelado el semen bovino comercial en evaluación.....</b>	<b>111</b>
<b>15</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el número de espermatozoides vivos al descongelado del semen bovino en evaluación.....</b>	<b>115</b>
<b>16</b>	<b>Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el número de espermatozoides vivos al descongelado del semen bovino en evaluación.....</b>	<b>117</b>

17	Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el número de espermatozoides muertos (transformado logarítmicamente) al descongelado del semen bovino en evaluación.....	122
18	Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el número de espermatozoides muertos (transformado logarítmicamente) al descongelado del semen bovino en evaluación.....	124
19	Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para las patologías espermáticas primarias del semen congelado bovino en evaluación.....	131
20	Comparación de medias mínimas cuadradas de las patologías espermáticas primarias de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, del semen congelado bovino en evaluación.....	133
21	Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para las patologías espermáticas secundarias de la evaluación de semen congelado bovino.....	138
22	Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para las patologías espermáticas secundarias del semen congelado bovino en evaluación.....	141

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Pág.
1	Espermatozoides con cola doblada, el señalado muestra gota citoplasmática distal provocando enrollado de la cola toro de la raza Brahaman (BR) perteneciente a la Fuente 2 (aumento 100x).....	150
2	Espermatozoide con cola enrollada (aumento 100x) .....	151
3	Espermatozoides con pieza intermedia doblada (aumento 100x) toro de la raza Senepol (SE) perteneciente a la Fuente 4.	152
4	Espermatozoide con cabeza amorfa (aumento 100x) .....	153
5	Espermatozoide con cola fuertemente enrollada (aumento 100x) .....	154
6	Espermatozoide con cola accesoria o múltiple (aumento 100x) .....	155
7	Espermatozoide con microcefalia (piriforme) .....	156
8	Espermatozoide con macrocefalia (cabeza grande, 100x) .....	157
9	Tinción con Eosina y Nigrosina para determinar vivos y muertos (aumento 100x) .....	158
10	Espermatozoide bovino normal, tinción con tinta China (aumento 100x) .....	159

## I. INTRODUCCIÓN

La ganadería en nuestro país está siendo favorecida con nuevas y variadas tecnologías. El manejo correcto y uso de nuevas tecnologías reproductivas en nuestras explotaciones bovinas, permitirá la continuidad de las mismas. Desde la técnica más simple como la es la Sincronización de Celos, pasando por la Inseminación Artificial, hasta aquellas más complejas como la Transferencia de Embriones. Cada una de ellas tiene en común un fin, obtener excelentes animales, ser más eficientes, cumplir con las nuevas y futuras demandas y exigencias del los mercados.

Estás técnicas deben ser apoyadas de un correcto manejo por parte del técnico, garantizándose contar con los equipos y productos de alta calidad. Nuestra investigación busca validar que esta técnica reproductiva (Inseminación Artificial) cumpla con los estándares de calidad. La calidad del semen a utilizar en cualquiera de las técnicas reproductivas, ya sea Inseminación Artificial (IA) como Transferencia de Embriones (TE) o Fertilización *In Vitro* (FIV) cumplirá un rol importante en su éxito. Muchos pueden ser los factores que predispongan o dejen en duda la buena calidad del semen a utilizar. Desde la extracción del mismo, la manipulación, su congelamiento, almacenamiento, transporte hasta llegar a su finca y ser usado en cualquiera de las técnicas antes mencionadas.

Es de suma preocupación el adquirir semen congelado de fuentes serias, que cumplan con los estándares de calidad exigidos. Tanto el productor como el técnico deben ser cautelosos y realizar pruebas de calidad sobre el semen usado en sus prácticas. En nuestro país se han llevado a cabo diferentes tipos de investigaciones donde se toma muy en cuenta la viabilidad post descongelación del semen. Diversos métodos de congelamientos han sido probados, arrojando que existen diferencias en la crió preservación de espermatozoides entre diferentes diluyentes empleados, afectando la calidad espermática post descongelación, (Samaniego, 2006).

De igual manera se han realizado estudios sobre el tiempo de refrigeración de semen diluido, lo cual si tiene efecto sobre la calidad espermática post descongelación, (Mela, 2006).

### **Objetivos.**

#### **General:**

Determinar si existen diferencias en la calidad del semen comercial al descongelado.

**Específicos:**

- Determinar si existen diferencias entre las fuentes distribuidoras para la viabilidad espermática sobre la calidad del semen comercial al descongelado.
  
- Determinar si existen diferencias entre las fuentes distribuidoras para la morfología espermática sobre la calidad del semen comercial al descongelado.
  
- Determinar si existen diferencias entre las fuentes distribuidoras para el número de espermatozoides con motilidad progresiva sobre la calidad del semen comercial al descongelado.
  
- Determinar si existen diferencias entre las razas para la viabilidad espermática sobre la calidad del semen comercial al descongelado.
  
- Determinar si existen diferencias entre las razas para la morfología espermática sobre la calidad del semen comercial al descongelado.
  
- Determinar si existen diferencias entre las razas para el número de espermatozoides con motilidad progresiva sobre la calidad del semen comercial al descongelado.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Anatomía y Fisiología de los Órganos Genitales Masculinos

Los órganos genitales masculinos incluyen en su formación (Figura 1) a los testículos como glándulas sexuales; conductos eferentes, epidídimo y conductos deferentes como conductos testiculares; próstata, glándulas bulbo uretrales y glándulas uretrales como glándulas sexuales accesorias y el pene como órgano copulador con la uretra como conducto urogenital, (Holy, 1970).

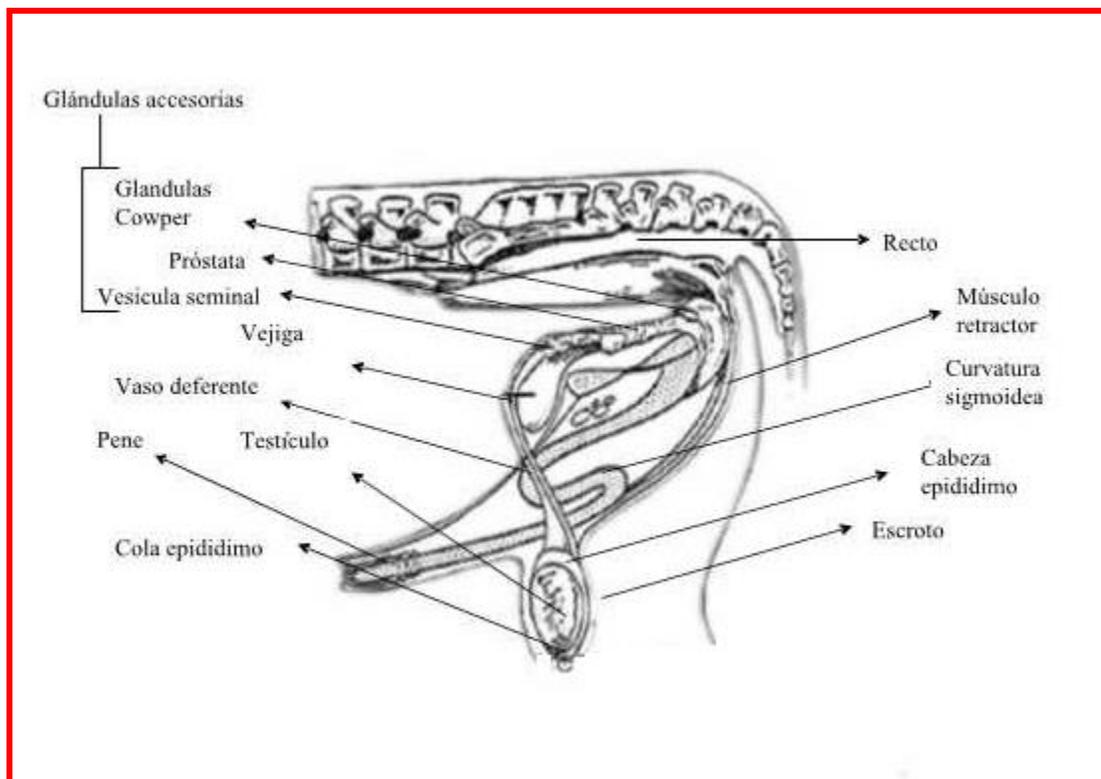
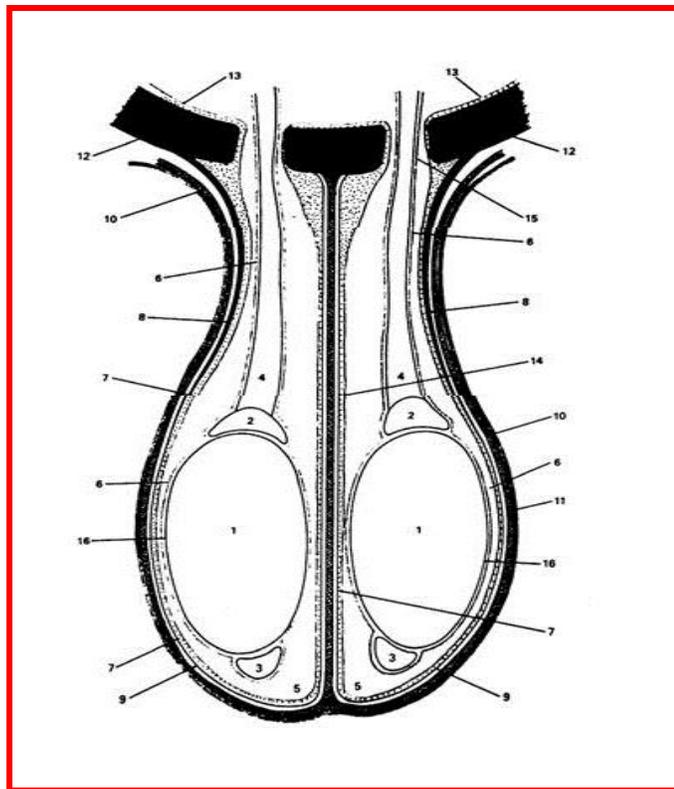


Figura 1. Componentes del Sistema Reproductor Masculino, (Holy, 1970).

En el bovino los testículos están colocados en la región inguinal, en posición vertical y tienen una forma oval, bastante alargada, (Holy, 1970).

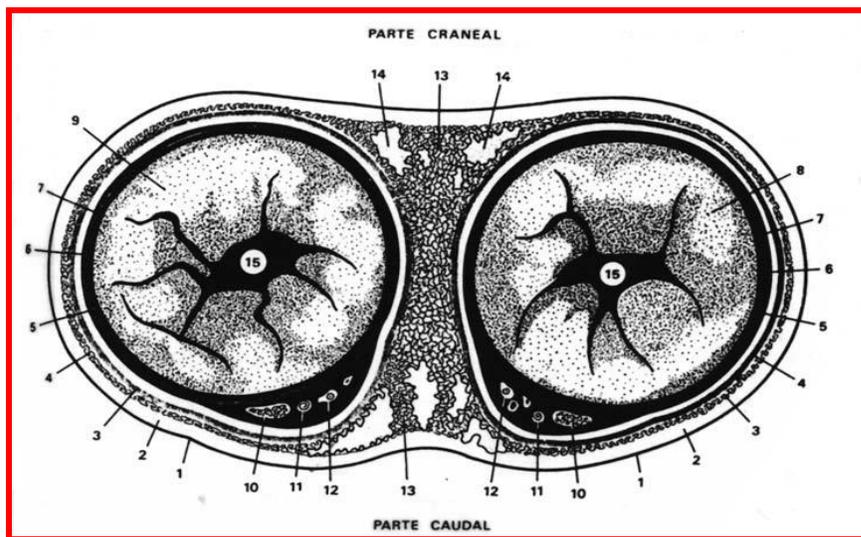
La superficie testicular está recubierta por una fina lámina, la túnica vaginal propia o peritoneo visceral, (Figura 2). Esta lámina se extiende por encima de una capa fibrosa llamada túnica albugínea que envuelve todo el parénquima testicular y que por su forma típica, ovoidea, caracteriza al testículo.



**Figura 2. Corte Vertical Frontal del Saco Escrotal. 1. Testículos; 2. Cabeza del Epidídimo; 4. Cordón Espermático; 5. Cavity Vaginal; 6. Túnica Vaginal Propia; 7. Túnica Vaginal Común; 8. Músculo Cremaster Externo; 9. Fascia Escrotal; 10. Túnica Dartos; 11. Piel; 12. Músculo Recto del Abdomen; 13. Peritoneo Abdominal; 14. Tabique Mediano; 15. Canal Inguinal; 16. Túnica Albugínea, (Holy, 1970).**

El parénquima testicular se sitúa o está contenido dentro de la fuerte cápsula de la túnica albugínea y presta al testículo un tono característico o turgencia que se aprecia a la palpación. La turgencia testicular se debe en parte a fibras de musculatura lisa, que en escasa cantidad aparecen dentro del tejido fibroso de la túnica albugínea, y que contribuyen en el proceso de transporte de los espermatozoides dentro del testículo.

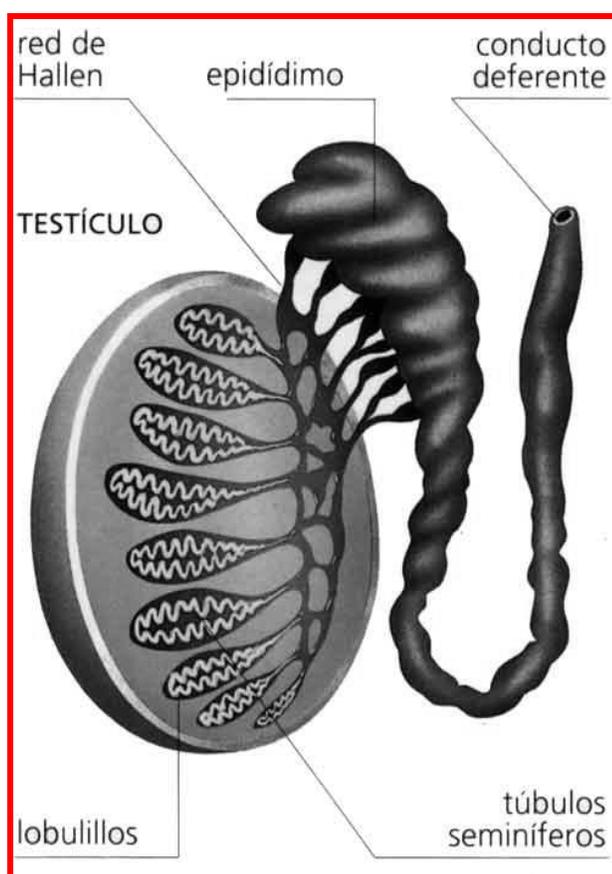
Una parte de la túnica albugínea se hunde hacia el centro del parénquima testicular formando una cinta de tejido conjuntivo esponjoso, el mediastino testicular (Figura 3).



**Figura 3. Corte Horizontal (Transversal) de los Testículos del Toro. 1. Epidermis; 2. Corium; 3. Túnica Dartos; 4. Túnica Vaginal común; 5. Túnica Albugínea; 8. Testículo Derecho; 9. Testículo Izquierdo; 10. Cuerpo del Epidídimo; 11. Vasos Sanguíneos; 12. Conducto Deferente; 13. Tabique Escrotal; 14. Tejido Graso; 15. Mediastino del Testículo, (Holy, 1970).**

Desde el mediastino irradian periféricamente los tabiques que se encuentran con la túnica albugínea y dividen el testículo en lóbulos, que en el caso del toro no están totalmente formados.

Cada lóbulo testicular contiene dos o tres túbulos seminíferos contorneados (Figura 4) que se anastomosan hacia el centro y se tornan rectos; se comunican luego con la rete testis, continúan después como conductos eferentes y salen del testículo para continuar en el epidídimo.



**Figura 4. Túbulos Seminíferos en el Testículo Bovino (Holy, 1970)**

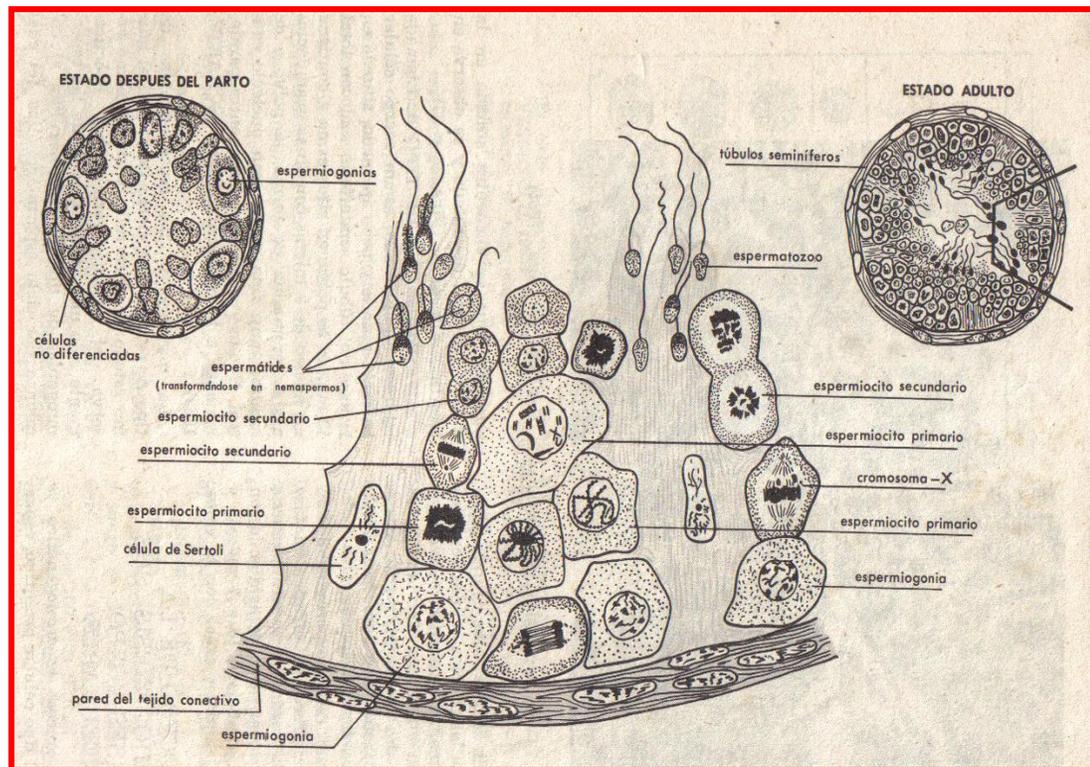
La propia masa de los túbulos seminíferos contorneados representa una masa blanda, amarilla, que al incidir la túnica albugínea se prolapsa.

Los túbulos seminíferos del testículo están conectados entre sí por un fino tejido conectivo, enriquecido con unas células especiales denominadas intersticiales (células de Leydig). Estas poseen un núcleo muy grande y en el citoplasma se puede apreciar una gran cantidad de pigmentos citoplasmáticos que probablemente son los precursores de los andrógenos y otros esteroides testiculares, (Villem, 1968).

Una parte fundamental del túbulo está representado por el epitelio germinativo, que es el precursor de los gametos masculinos (nemaspermos) y por las células de Sertoli, las cuales alimentan los nemaspermos durante la espermiogénesis, (Ensminger, 1965).

Las células de Sertoli son células de citoplasma extendido, de forma piramidal, que sostienen el epitelio germinativo y constituyen el armazón del túbulo seminífero. Descansan sobre la membrana basal y se adosan unas a otras por especializados complejos de unión fuertes que se localizan en la porción basal de las células y evitan que los diferentes estratos celulares penetren a la luz del túbulo seminífero, a menos que lo hagan a través del citoplasma de las células, (Holy,1970).

En un corte transversal del túbulo seminífero pueden observarse (Figura 5) desde la pared hacia la luz del túbulo una membrana basal, rodeada de células mioides, que actúa como barrera hemato-testicular.



**Figura 5. Relaciones Entre las Células Germinales y las Células de Sertoli, (Holy, 1970).**

Las células de sostén o células de Sertoli y las células germinales en sus distintos estadios contenidas entre los citoplasmas de las anteriores, ubicándose las espermatidas o espermatozoides con sus colas hacia la luz del túbulo.

Según Barth y col., (2007), las células de Sertoli y la espermatogonias son los únicos elementos celulares del epitelio del túbulo seminífero que contactan con la membrana basal.

Como consecuencia de ello, la mayor parte del desarrollo germinal se realiza detrás de la barrera hemato-testicular, estando las células germinales en estrecho contacto con la membrana plasmática de la célula de Sertoli. Esta disposición anatómica llevó a la conclusión de que estas células eran necesarias para la nutrición de las células germinales a medida que se desplazaban desde la membrana basal hacia la luz del túbulo. La barrera hemato-testicular es una barrera selectiva que no permite el paso de macromoléculas como las inmunoglobulinas.

El compartimiento basal contiene las espermatogonias y los espermatocitos *preleptotenes*, está separado del compartimiento adluminal que contiene estadio más avanzados del desarrollo espermatogénico, por las especializadas uniones de las células de Sertoli. Estas uniones son el componente principal de la barrera hemato-testicular, (Barth y col., 2007).

Los conductos sexuales o el aparato conductor del testículo en el macho tienen por base embrionaria los conductos de Wolff, (Holy, 1970).

Los conductos sexuales nacen del testículo y forman parte del rete testis que se encuentra situada en el mediastino testicular y es una formación constituida por una serie de túbulos muy finos.

En el polo dorsal del testículo, partiendo del mediastino, pasan doce ó quince tubos, que son los conductos eferentes. Estos son rectos al inicio, luego se tornan ondulantes formando los conos vasculares o lóbulos del epidídimo, (Holy 1970; Villet, 1968).

Según Holy (1970), este conducto epididimario sigue zigzagueando a lo largo del eje longitudinal del testículo. En su recorrido se pueden distinguir la cabeza, cuerpo y cola del epidídimo. Todas estas formaciones están fijadas al testículo por el ligamento epididimario. El conducto del epidídimo antes de salir de la cola se hace más grueso y casi recto sigue el cuerpo del epidídimo hacia la cabeza y sobrepasándola dorsalmente en el cordón espermático y luego el anillo inguinal como conducto deferente.

Desde el punto de vista de la reproducción el epidídimo tiene gran importancia porque cumple la tarea de transporte, maduración, concentración y reservorio de los nemaspermios, (Ensminger, 1965).

Las glándulas sexuales accesorias del macho son: Vesículas seminales, Próstata, Glándulas Bulbouretrales (Cowper). Estas glándulas producen una secreción

típica, plasma seminal, que expulsan durante la eyaculación para diluir el producto celular del testículo y de este modo, forman importante fracción del eyaculado, (Holy, 1970).

Los espermatozoides están suspendidos en el líquido seminal, con el cual son enviados, en circunstancias oportunas, al aparato sexual femenino. Este líquido es producido por tres glándulas.

Poco antes de que los conductos deferentes se unan a la uretra, por intermedio de los conductos eyaculadores, un par de vesículas seminales, desaguan en ellos. El producto de las vesículas seminales tiene una gran importancia en los nemaspermos y participa en el volumen del eyaculado hasta un cincuenta por ciento. Este contiene todos los compuestos necesarios para la vida de los nemaspermos incluyendo la fructosa, ácido cítrico, proteínas, fosfolípidos, enzimas, sales y tiene una reacción ligeramente ácida.

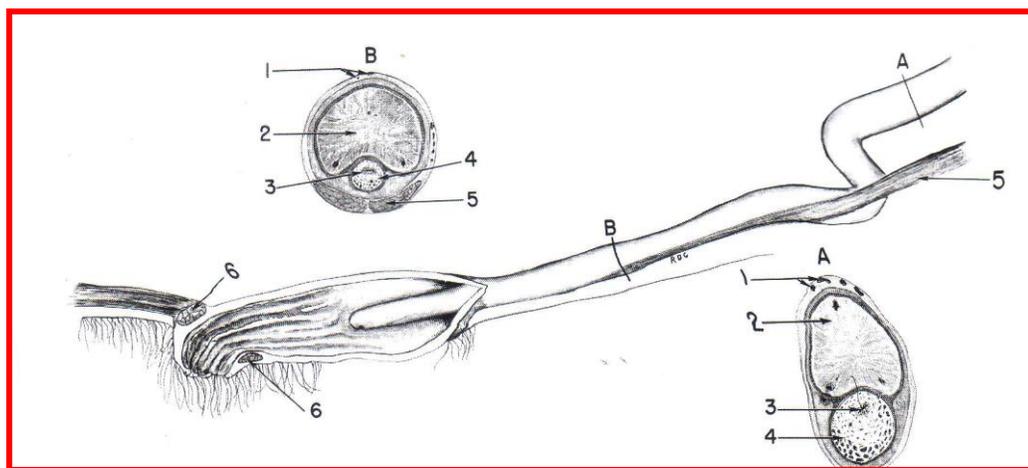
La Próstata ubicada en el cuello de la vejiga urinaria. Vierte su contenido a la uretra por dos conductos cortos y angostos. Durante la eyaculación la próstata elimina primero un líquido opalescente que contiene ácido cítrico y algunas sales, y luego la espermina que le brinda al eyaculado su olor típico.

Las glándulas bulbouretrales de Cowper de forma ovoide se hallan en pares situadas en el arco isquiático desembocando aisladamente en la uretra. Su

secreción tiene como función limpiar y lubricar la uretra antes de la cópula, con lo cual se facilita el paso de los nemaspermios por ella, (Ensminger, 1965; Villee, 1968; Holy 1970).

La uretra es un tubo que se extiende desde la vejiga urinaria al exterior, este sirve de tanto para transporte espermático como para el paso de la orina, (Villee, 1965).

El pene es el órgano copulador. Constituido por tejido fibroelástico, de forma cilíndrica, de dura consistencia (Figura 6). Se inicia en la arcada isquiática y continúa ventrocranealmente por debajo del rafe perineal, hundiéndose entre los muslos corre por la línea media de la pared abdominal, terminando detrás del ombligo, protegido por el prepucio, (Holy, 1970).



**Figura 6. Vista Lateral del Pene del Toro. 1. A. Vista Dorsal; 2. Cuerpo Cavernoso del Pene; 3. Uretra; 4. Cuerpo Esponjoso del Pene; 5. Retractor; 6. Prepucial Craneal; A y B, Señalan los Lugares de las Secciones Transversales, (Tríbulo y col, 2007).**

### **2.1.1. Desarrollo y Formación de los Nemaspermos. Espermiogénesis**

Se conoce con el nombre de gametogénesis al proceso general en virtud del cual se forman las células sexuales: espermatozoides en el macho y óvulos en la hembra. Ya se trate de espermatogénesis o de ovogénesis, los procesos de diferenciación son sensiblemente los mismos y comprenden tres etapas equivalentes: una fase de proliferación, un estadio de crecimiento y una tercera etapa de diferenciación y maduración durante la cual se produce la meiosis o reducción cromática, (Derivaux, 1967).

La Espermiogénesis o desarrollo de las células sexuales masculinas (nemaspermos, espermatozoos, espermatozoides, espermias) representa un proceso muy complicado que incluye la fase de metamorfosis y formación de las células seminíferas masculinas y se realiza dentro de los túbulos seminíferos del testículo, (Holy, 1970).

El testículo está formado por miles de túbulos espermáticos cilíndricos, en cada uno de los cuales se forman millones de espermatozoos. Las paredes de estos túbulos están tapizadas de células germinales primitivas, todavía sin especialización, llamadas espermatogonias. En el embrión y, más adelante, durante la infancia, las espermatogonias se dividen por mitosis, lo que permite que estos elementos se multipliquen y den lugar al crecimiento del testículo. Llegada a la madurez sexual, algunas de las espermatogonias experimentan el proceso de espermatogénesis, modificaciones en serie de las que termina por salir el

espermatozoo maduro; el resto sigue dividiéndose por mitosis, lo que da lugar a nuevas células de esta clase que, en el momento oportuno, podrán derivar a la espermatogénesis, (Vilée, 1965).

La espermiocitogénesis se encuentra determinada por la aparición de las células sexuales primitivas (espermiogonias) y termina con la formación de las espermatídes, las que se alejan de la membrana basal del túbulo. El fin de la espermiocitogénesis es el desarrollo del individuo celular con el número haploide de cromosomas hasta transformarse en espermatídes, (Holy, 1970).

La unidad histológica del testículo se halla representada por el conductillo seminífero, limitado exteriormente por una membrana vítrea o basal sobre la que asientan dos tipos de elementos celulares, morfológicos y funcionalmente diferentes:

- a) Las células de Sertoli, células alargadas parecidas a columnas plasmodiales, que asientan ampliamente sobre la vítrea y están separadas unas de otras por masas de células seminales en diferentes etapas de evolución. Procedentes del epitelio celómico, tienen la función de sostener y nutrir a los espermatozoides durante el último estadio de su diferenciación.
  
- b) Las células de la serie germinativa, cuyo elemento básico es la espermatogonia. Hasta el momento de la pubertad el conductillo seminífero solo tiene células de Sertoli y espermatogonias, las cuales se hallan

dispuestas en una o varias filas en contacto con la vítreo. Al llegar la pubertad la actividad mitótica aumenta intensamente y conduce a la formación de los espermatoцитos de primer orden, que al aumentar de volumen adquieren la denominación de Auxocitos.

Es sobre estos en donde se lleva a cabo el fenómeno esencial de la meiosis o reducción cromática (Figura 7). Al dividirse, los espermatoцитos de primer orden pierden la mitad de sus cromosomas, (Derivaux, 1967).

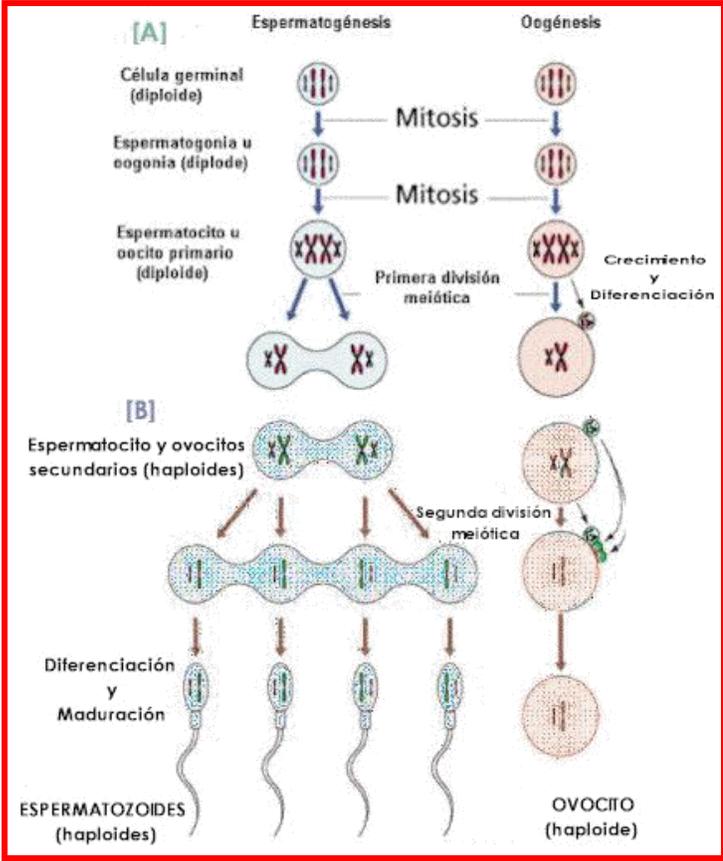


Figura 7. Formación de los Gametos Sexuales o Gametogénesis, (Derivaux, 1967).

## **2.1.2. Proceso de la Espermiogénesis.**

### **2.1.2.1. Fases y Tipos Celulares.**

La base del proceso espermiogénético es la aparición del tipo celular primitivo, espermiogonia, que se encuentra situada en la membrana basal del túbulo y se observa en tres tipos diferentes: Espermiogonia tipo A o Espolvoreada, Espermiogonia de tipo Intermedio y Espermiogonia tipo B, (Holy, 1970).

Espermiogonia tipo A, llamada también Espolvoreada, es un cuerpo celular bastante grande y poco aplanado, situado en la base del túbulo seminífero.

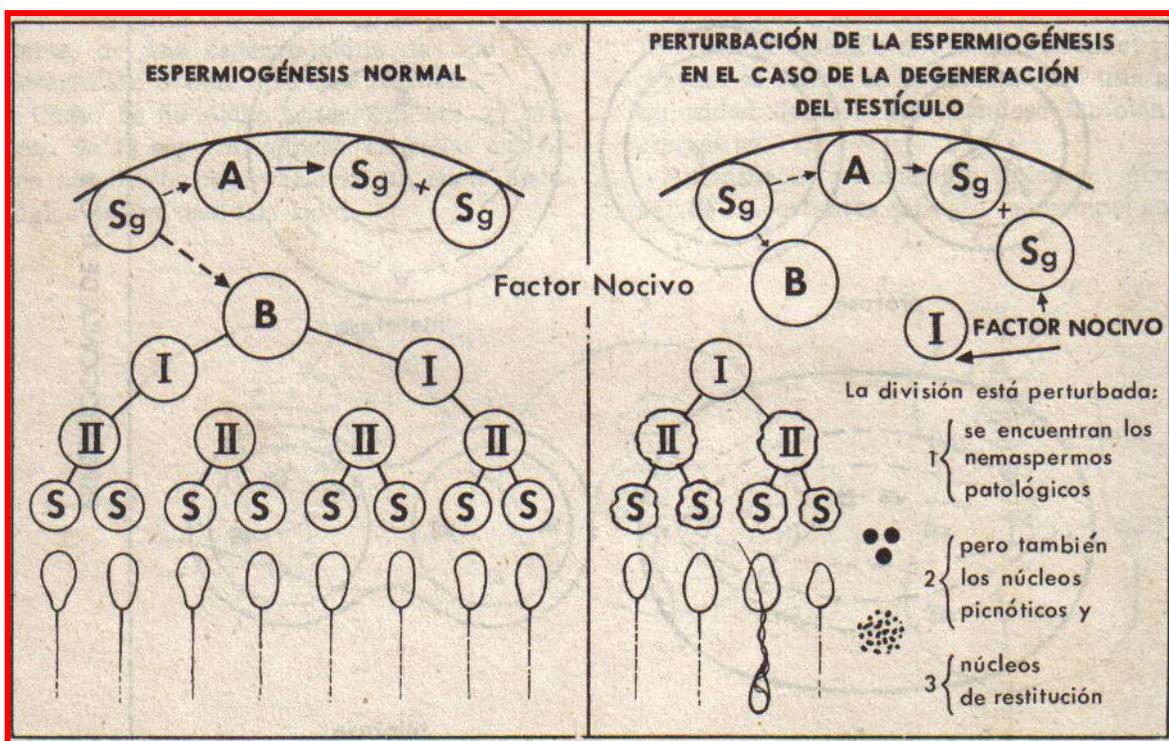
Según Schaetz (1963) citado por Holy (1970), describe la espermatogonia de tipo A, está contiene un núcleo de ocho micras con finas granulaciones de cromatina en forma de polvo de espuma muy fina y un gran nucléolo central. El huso cromático se encuentra paralelamente a la membrana basal.

La mayoría de las espermatogonias de tipo A, permanecen cierto tiempo en el mismo estado de desarrollo y sirven como reserva del epitelio germinativo.

En un estado de desarrollo más avanzado de la Espermiogénesis se encuentra el segundo tipo celular, la espermatogonia de tipo Intermedia, mientras que las otras espermatogonias de tipo A permanecen en estado de latencia o en la interfase esperando por el impulso para desarrollarse. Estas se diferencian solo

por el menor tamaño del núcleo y por una mayor riqueza de cromatina en él, (Holy, 1970).

Según Ortavant (1959) citado por Holy (1970), la transformación de la espermiogonia de tipo A en el tipo Intermedio es para el proceso de la Espermiogénesis una fase crítica (Figura 8) en particular, porque cualquier fenómeno nocivo puede provocar fácilmente transformaciones degenerativas, perturbando sustancialmente el proceso.



**Figura 8. Proceso de la Espermiogénesis normal y de la perturbada. Sg. Espermiogonias de todos los tipos (A-B). I. Espermiocitos primarios. II. Espermiocitos secundarios. S. Espermátides, según Knudsen (1954) citado por Holy (1967).**

El tipo intermedio de la espermiogonia sigue desarrollándose con rapidez, formándose la espermiogonia de tipo B, la cual pasa inmediatamente a formar los espermiocitos.

La espermiogonia de tipo B se diferencia del tipo A, especialmente por su configuración y posición del núcleo. El núcleo esférico tiene en promedio ocho micras, y está situado en la base tubular; es muy rico en cromatina que se tiñe con intensidad y que se encuentra localizada en la periferia nuclear, inmediatamente debajo de la membrana. La situación periférica de la cromatina brinda a la célula una forma típica, llamada Crustosa y es un signo muy importante en el diagnóstico histológico, (Holy, 1970).

Como producto de las espermiogonias de tipo B se desarrollan los Espermatoцитos Primarios o de primer Orden, (Derivaux, 1967; Holy, 1970).

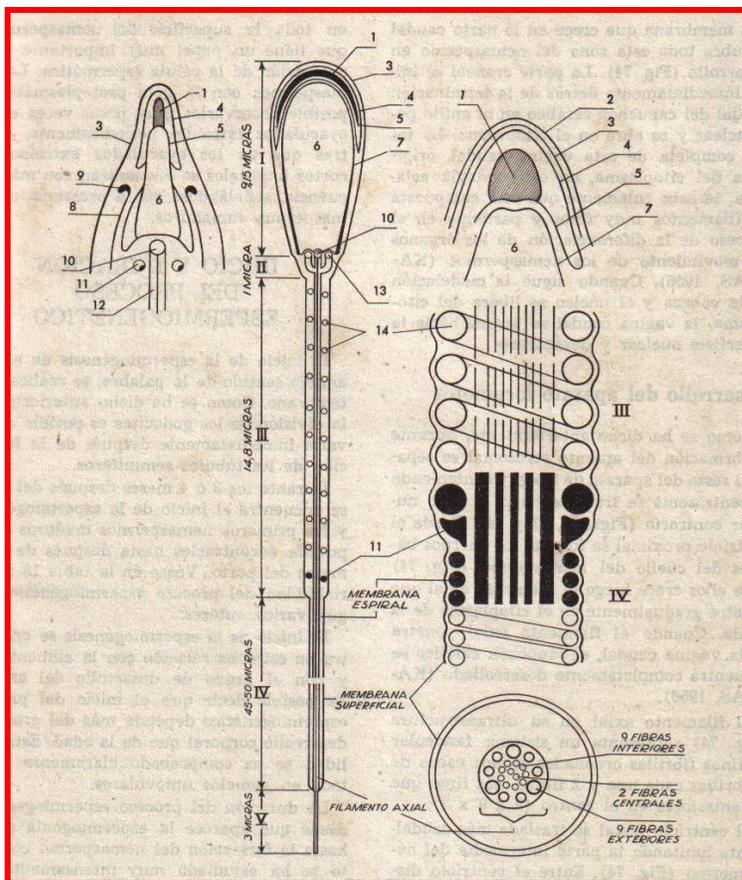
Según Holy (1970), después de la formación del filamento cromosómico se inicia la fase de la división del espermiocito primario, llamada meiótica o reductiva, durante esta división se reduce el número de cromosomas a la mitad (número haploide) para poder aportar solamente la mitad de los cromosomas de la especie en la formación del nuevo individuo.

### **2.1.3. Formación del Nemaspermo.**

Con la formación de las espermatídes termina la división y multiplicación de los precursores de los nemaspermos (Espermocitogénesis). Después se realiza solamente la metamorfosis de la espermatíde para poder desarrollarse el nemaspermo, (Holy, 1970).

Durante esta fase se dan una serie de cambios, tanto en el núcleo como en el citoplasma de la espermatíde, sucediendo todo este proceso en el citoplasma de las células de Sertoli en la luz de los túbulos seminíferos, (Derivaux, 1967).

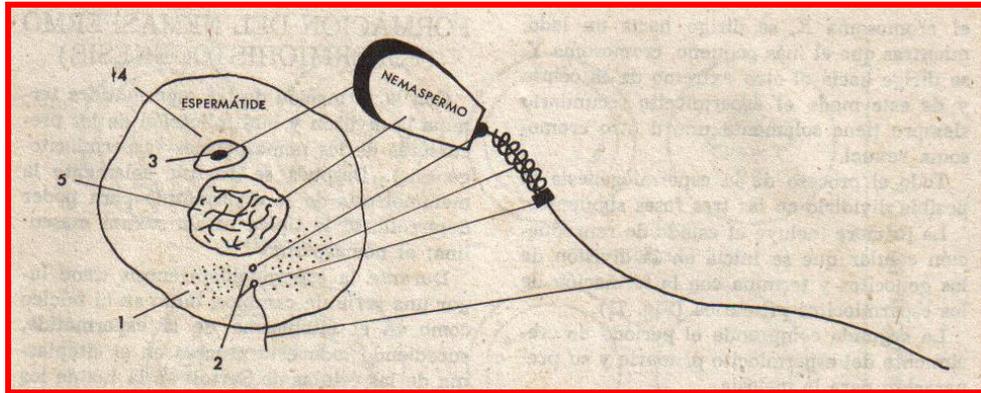
Según Holy (1970), en lo que se refiere a los cambios en el núcleo solo suceden cambios de forma y condensación de la cromatina. Junto con la prolongación o alargamiento de la célula (Figura 9) se prolonga también el núcleo, y aplanándose toma la forma de pala. Durante el traslado del núcleo hacia el polo craneal se forma en el carioplasma una granulosidad densa, condensándose también la cromatina.



**Figura 9. Estructura Microscópica del Nemaspermo del Toro. 1. Gránulo Acrosomal. 2. Membrana Celular del Citoplasma de las Células de Sertoli. 3. Membrana Celular. 4. Membrana Externa Vacuolar. 5. Membrana Interna Vacuolar. 6. Núcleo. 7. Membrana Nuclear. 8. Vagina caudal. 9. Anillo Perinuclear. 10. Centríolo Proximal. 11. Centríolo Distal. 12. Fibra Axial. 13. Gránulos Basales. 14. Espirales de Mitocondrias. I. Cabeza. II. Cuello. III. Parte Intermedia. IV. Cola. V. Final de la Cola, (Adaptado según varios autores) citado por Holy (1970).**

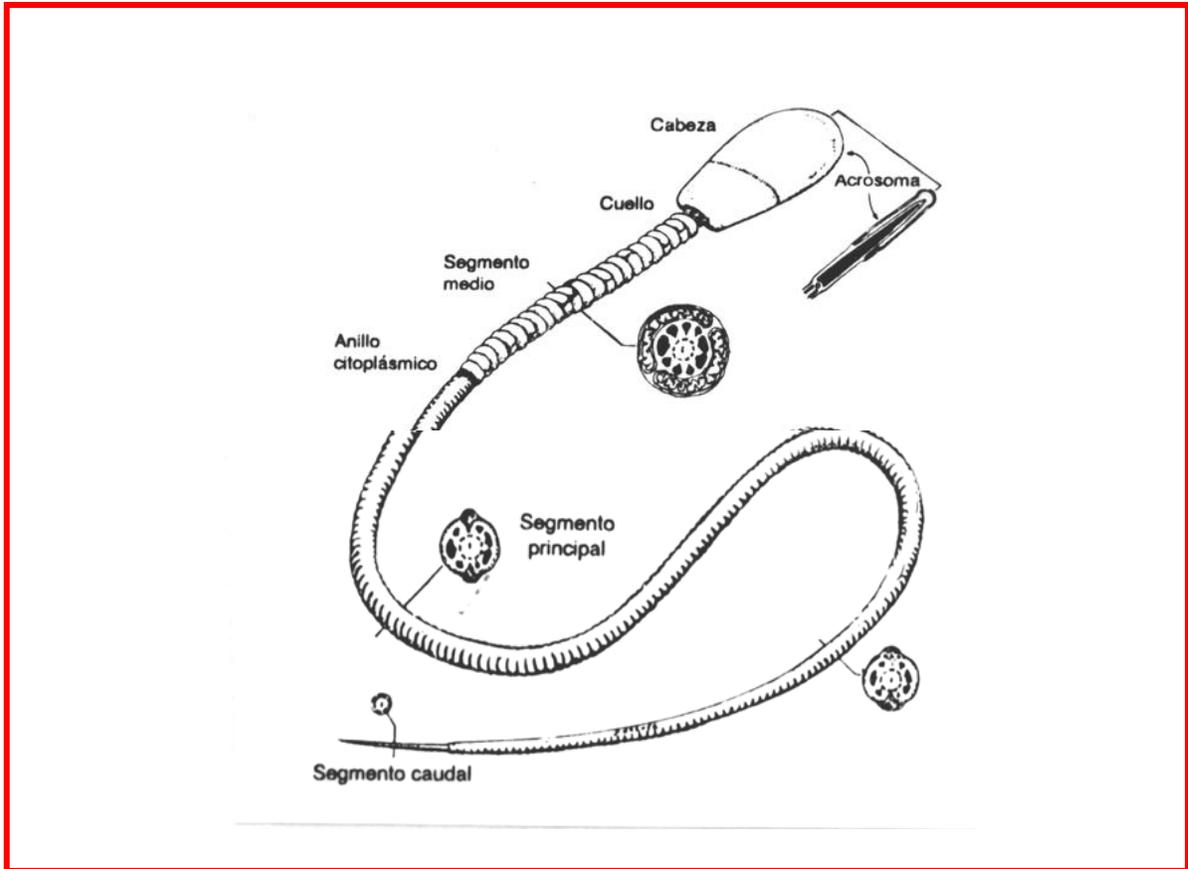
Además de la formación típica del núcleo sufren importantes cambios en los componentes citoplasmáticos. De los organelos citoplasmáticos se desarrollan

importantes sistemas del nemaspermo (Figura 10) necesario para la vida, fertilidad y motilidad (capuchón cefálico, cola, espiral, etc.)



**Figura 10. Espermatozoide con Ilustración del Origen de Varias Partes de su Cuerpo en Comparación con una Espermátide. 1. Mitocondrias. 2. Centriolos. 3. Gránulos Acrosómico. 4. Vacuola Acrosómica. 5. Núcleo, (Holy, 1970).**

Aunque la cola y la cabeza del espermatozoide se encuentran totalmente desarrolladas al momento de la espermiación, la finalización de los cambios en la maduración ocurre en el epidídimo (Figura 11).



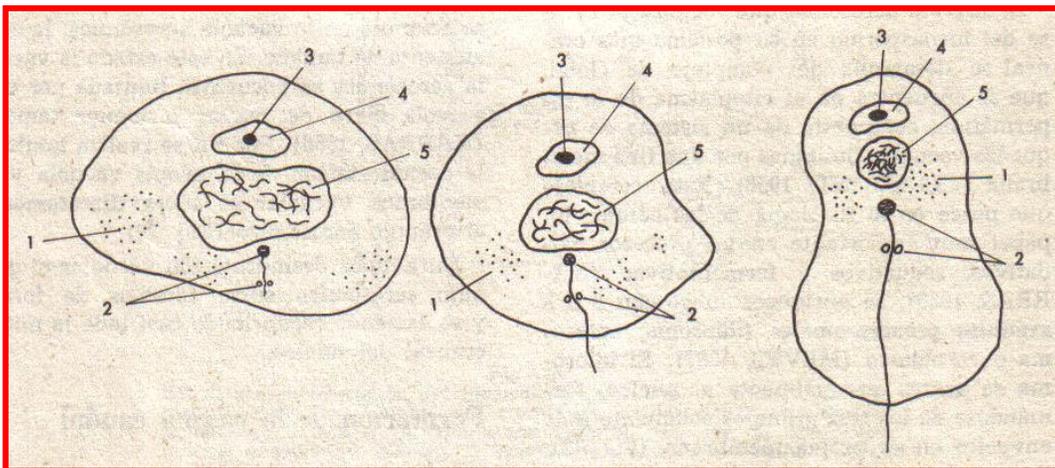
**Figura 11. Características de un Espermatozoide Bovino Maduro Normal, (Hafez, 1996).**

## **2.2. Desarrollo del Sistema Acrosomal (capuchón cefálico)**

Según Clermont (1956) citado por Holy (1970), el sistema acrosomal que recubre la cabeza del nemaspermio en su posición más craneal se desarrolla del complejo de Golgi, que se encuentra en el citoplasma de la espermátide, compuesto de un sistema de pequeñas vacuolas limitadas por una fina membrana.

Este complejo que posee en la fisiología de las células un papel muy importante en los procesos oxidativos, reductivos y fermentativos según Karras (1956) citado por Holy (1970), se enriquece luego con dos o tres gránulos proacrosomales (ideosoma, acrosoma o acroblasto).

El ideosoma se acerca gradualmente al núcleo, formándose de los tres granulos solo uno, envuelto en su propia membrana (Figura 12). Durante el proceso del desarrollo del sistema acrosomal se separa el ideosoma del resto del aparato de Golgi, y emigra hacia el polo caudal; la vacuola acrosómica se acerca al núcleo y recubriendo la parte craneal forma el capuchón cefálico, (Barth y col., 2007).



**Figura 12. Esquema de la Espermiohistogénesis (Desarrollo del Nemaspermo de la Espermatíde). 1. Mitocondrias. 2. Centríos. 3. Gránulo Acrosómico. 4. Vacuola Acrosómica. 5. Núcleo, (Holy, 1967).**

Junto con la formación del capuchón cefálico se realiza la metamorfosis nuclear de la espermatíde sobre todo la deshidratación de la misma. La sustancia

cromática se homogeniza disminuyendo el tamaño del núcleo. El líquido liberado durante el proceso de la condensación nuclear se acumula en la vacuola acrosómica, la cual aumenta de tamaño. En este estado la vacuola acrosómica se encuentra limitada por una aureola clara de mayor y menor tamaño. Por fin se realiza también la deshidratación de la propia vacuola y la membrana vacuolar se adosa directamente al gránulo acrosómico, (Holy, 1970).

Durante la deshidratación vacuolar el granulo acrosómico sufre cambios de forma y se extiende recubriendo casi toda la mitad craneal del núcleo.

### **2.3. Formación de la Vagina Caudal**

Después de diferenciarse el capuchón cefálico aparece alrededor de toda la parte ecuatorial del núcleo (anillo perinuclear) una membrana que crece en la parte caudal y cubre toda esta zona del nemaspermo en desarrollo. La parte craneal se inicia inmediatamente detrás de la terminación caudal del capuchón cefálico en el anillo perinuclear y se abre en el citoplasma, (Holy, 1970).

La tarea completa de esta vagina caudal, originada del citoplasma, no está todavía aclarada; se sabe solamente que está compuesta de filamentos muy finos y participa en el proceso de la diferenciación de los órganos de movimiento de los nemaspermos según Karras (1956) citado por Holy (1970). Cuando se sigue la modelación de la cabeza y el núcleo se libera del citoplasma, la vaina caudal se acerca hacia la superficie nuclear y desaparece.

#### 2.4. Desarrollo del Sistema Locomotor

Según Karras (1956) citado por Holy (1970), durante la formación del aparato acrosomal se separa el resto del aparato de Golgi y conteniendo el centrosoma se traslada hacia el polo nuclear contrario. Desde el centriolo proximal se forman los cuerpos basales del cuello del nemaspermo y de ellos crece luego el filamento axial que penetra gradualmente en el citoplasma de la célula. Cuando el filamento axial penetra en la vagina caudal, el capuchón cefálico se encuentra completamente desarrollado.

El filamento axial en su ultraestructura (Figura 13) representa un sistema fascicular de finas fibrillas ordenadas en dos capas de nueve fibrillas cada una y dos fibras más finas que las anteriores en el centro.

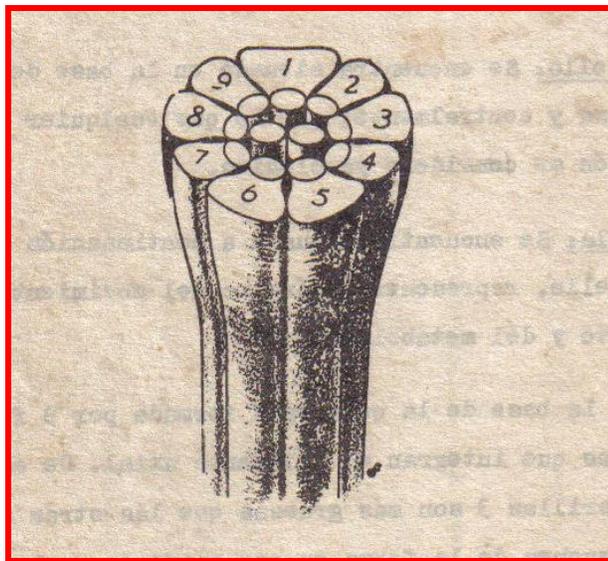


Figura 13. Filamento Axial del Nemaspermo, (Rodríguez, 1974).

El centriolo distal se traslada más caudalmente limitando la parte intermedia del nemaspermo. Entre el centriolo distal y el proximal se concentran las mitocondrias, formando una doble espiral, típica formación de la parte intermedia de la cola.

El resto del citoplasma se traslada hacia la cola eliminándose gradualmente, quedando sólo una fina capa citoplasmática en toda la superficie del nemaspermo, la que tiene un papel muy importante en la protección de la célula espermática.

Los nemaspermos con la gota protoplasmática es posible observarlos muy pocas veces en los eyaculados extraídos periódicamente, mientras que los eyaculados extraídos en cortos intervalos se encuentran con más frecuencia, señalándose así la presencia de nemaspermos inmaduros, (Derivaux, 1967; Holy, 1970; Barth y col., 2007).

## **2.5. Inicio de la Espermiogénesis.**

El inicio de la espermatogénesis en el más amplio sentido de la palabra, se realiza muy temprano

En la pubertad, y a través de toda la vida reproductiva del animal las células germinales del macho se producen en los túbulos seminíferos de los testículos por medio del proceso de espermatogénesis. La división de los gonocitos es

posible observarla inmediatamente después de la formación de los túbulos seminíferos. Durante los tres o cuatro meses después del parto se encuentra el inicio de la espermiogénesis y los primeros nemaspermios maduros no son posibles encontrarlos hasta después de los siete meses del parto, (Holy, 1970).

El inicio de la espermiogénesis se encuentra en estrecha relación con la alimentación y con el grado de desarrollo del animal. Es posible decir que esta más estrechamente relacionada con el grado de desarrollo corporal que la edad.

La proliferación de las células germinales y la subsecuente liberación de los espermatozoides no ocurren al azar. Todos los animales siguen más o menos el mismo patrón general en el desarrollo de sus células germinales. En los mamíferos, los espermatocitos jóvenes originados a partir de la última división de las espermatogonias, forman una generación. Esta generación está conformada por un grupo o capa de células en el mismo estadio de desarrollo en la pared del túbulo seminífero.

A intervalos de tiempo regulares van apareciendo las nuevas generaciones de espermatocitos. Cada nueva generación va empujando o forzando a la anterior hacia el lumen del túbulo seminífero. Dado que los estadios de la espermatogénesis ocurren en tiempos e intervalos precisos y regulares, se forman asociaciones de células de composición constante que siguen una a otra en un determinado punto del túbulo. Este proceso se conoce como ciclo de los

túbulos seminíferos y se define como la serie de cambios que ocurren en un área determinada del epitelio entre dos apariciones sucesivas de la misma asociación celular, (Barth y col, 2007).

## **2.6. Capacidad Productora del Parénquima Testicular.**

Los nemaspermios liberados en los túbulos seminíferos son transportados a través del sistema de los conductos sexuales hacia el epidídimo por la ayuda de varios mecanismos; líquido intratubular, contracciones del sistema conductor, contracciones de la túnica albugínea, movimiento de los animales, etc., (Holy, 1970).

La densidad de los nemaspermios en los testículos, según Goetze (1949) citado por Holy (1970), es de 0.01 millón/mm<sup>3</sup>, en la cabeza del epidídimo de 0.16; en el cuerpo, de 1 millón, y en la cola 3.6 millones/mm<sup>3</sup>. La reserva de semen en el epidídimo desaparece rápidamente y en especial cuando se extraen eyaculados con frecuencia.

Según Kirton y col., (1964) citados por Holy (1970), la producción semanal de nemaspermios es alrededor de 28.3 a 37.2 x 10<sup>9</sup> de nemaspermios y la producción diaria se calcula alrededor de 7 x10<sup>9</sup> (15 x 10<sup>9</sup> como máximo) de nemaspermios en el toro.

La producción de espermatozoides por el parénquima testicular es enorme; se ha comprobado que un gramo de tejido testicular del toro produce más de 6000 espermatozoides por minuto. Esto significa que un toro cuyos testículos tuvieran 300 a 350 g de peso promedio cada uno, produciría diariamente 5 a  $6 \times 10^9$  espermatozoides, (Barth y col. 2007).

Según Ortavan (1959) citado por Holy (1970), matemáticamente, se ha comprobado que un gramo de parénquima testicular, produce diariamente  $2 \times 10^6$  espermatozoides y 8,460 durante un minuto.

## **2.7. Causas de las Anormalidades Espermáticas**

La edad, la carencia de ciertos aminoácidos esenciales, la carencia de vitamina A, las estaciones, las influencias térmicas, ciertas afecciones hereditarias (hipoplasia), enfermedades infecciosas de los testículos y de las glándulas accesorias, los trastornos generales, la insuficiencia tiroidea y el entrenamiento defectuoso, son otros tantos factores capaces de provocar la aparición de anomalías espermáticas, (Derivaux, 1967).

**El estrés** en general, que puede ser debido a enfermedad, heridas, exposiciones severas o prolongadas a bajas temperaturas, mala alimentación, transporte, cambios en el medio ambiente, dolor (por ejemplo: abscesos pódales, laminítis, artritis, descornado) afecta la función testicular a través del mecanismo endócrino descrito. El estrés induce a la producción excesiva de cortisol, que a su vez reduce la secreción de LH por la pituitaria y esto produce

una disminución en la producción de testosterona por las células de Leydig, (Barth y col., 2007).

**La edad** es un factor importante, se tratará de evitar someter a los sementales jóvenes a excesos sexuales, o hacerles ejercer sus funciones demasiado precozmente. La espermatogénesis no es completa hasta el momento de la pubertad, así los toros de menos de un año de edad presentan con mucha frecuencia un esperma de muy escasa concentración; la erección y la eyaculación son a menudo incompletas debido a un desarrollo insuficiente del pene, (Derivaux, 1967).

La presencia de espermatozoides anormales no indica pues necesariamente que se trate de un esperma infértil. En efecto, es cierto que los zoospermios completamente desarrollados pueden permanecer en los órganos sexuales un cierto tiempo antes de ser eyaculados y experimentar sobre todo los más viejos, un cierto grado de degeneración; se admite generalmente que una estancia demasiado larga, como consecuencia de un reposo sexual prolongado, tiene efectos nocivos sobre la calidad de los espermatozoides, (Derivaux, 1967).

Según Hag (1965) citado por Derivaux (1967), el tanto por ciento de formas anormales es más elevado en el caso de hipoplasias que en el caso de degeneraciones testiculares.

Varias causas podrían producir una espermatogénesis anormal. La mayoría de ellas pueden ser clasificadas como relacionadas con las elevadas temperaturas o con el estrés. Otras causas menos comunes podrían ser clasificadas como genéticas, tóxicas, o tal vez deficiencias en la nutrición. El aumento de 0.5 a 1 °C de temperatura en los testículos de un toro, por algunos días, es suficiente para causar un desorden notorio en la espermatogénesis, (Barth y col., 2007).

La importancia de **la herencia** en la determinación de la fertilidad resulta difícil de precisar con exactitud. Estudios estadísticos sobre herencia y fertilidad realizados en diferentes animales de granja, demuestran que existen diferencias raciales, diferencias entre las familias de una misma raza o entre la descendencia de algunos progenitores. Sin embargo en general los factores genéticos, en lo que se refiere a la fertilidad, parecen tener menos importancia que los factores ambientales. La fertilidad normal depende principalmente de factores ambientales; las interacciones entre estos y el genotipo juegan un papel importante para la fertilidad, por lo tanto el mejor medio de aumentar ésta última será la de buscar un ganado lo mejor adaptado posible a las especiales condiciones del medio, (Derivaux, 1967; Decuadro-Hansen, 2004).

Las funciones normales del epidídimo y del epitelio seminífero dependen de niveles muy altos de testosterona. Hay evidencia de que las altas temperaturas provocan una disminución de la liberación de LH, según Welsh y col., (1981)

citados por Barth y col. (2007), lo que resulta en niveles más bajos de testosterona disponible para las células germinales en crecimiento.

El resultado de severas alteraciones de la espermatogénesis es la degeneración y descamación de estratos celulares al lumen del túbulo, quedando en el epitelio germinal sólo las células de Sertoli y las espermatogonias. Los túbulos vacíos pierden turgencia y por esta razón los testículos que han sufrido una degeneración se vuelven más blandos y más chicos. Después que desaparece el daño a la espermatogénesis, la espermatogonia repuebla los túbulos, los testículos vuelven a su tamaño y consistencia normales y se produce semen de calidad y concentración normales. Generalmente, cuando hay una alteración en la espermatogénesis, no todos los túbulos son afectados en el mismo grado. Dentro de una sección histológica, algunos túbulos podrían ser completamente normales y otros presentar daños celulares. Por lo tanto, las muestras de semen tienen proporciones variadas de células normales y anormales, (Barth y col., 2007).

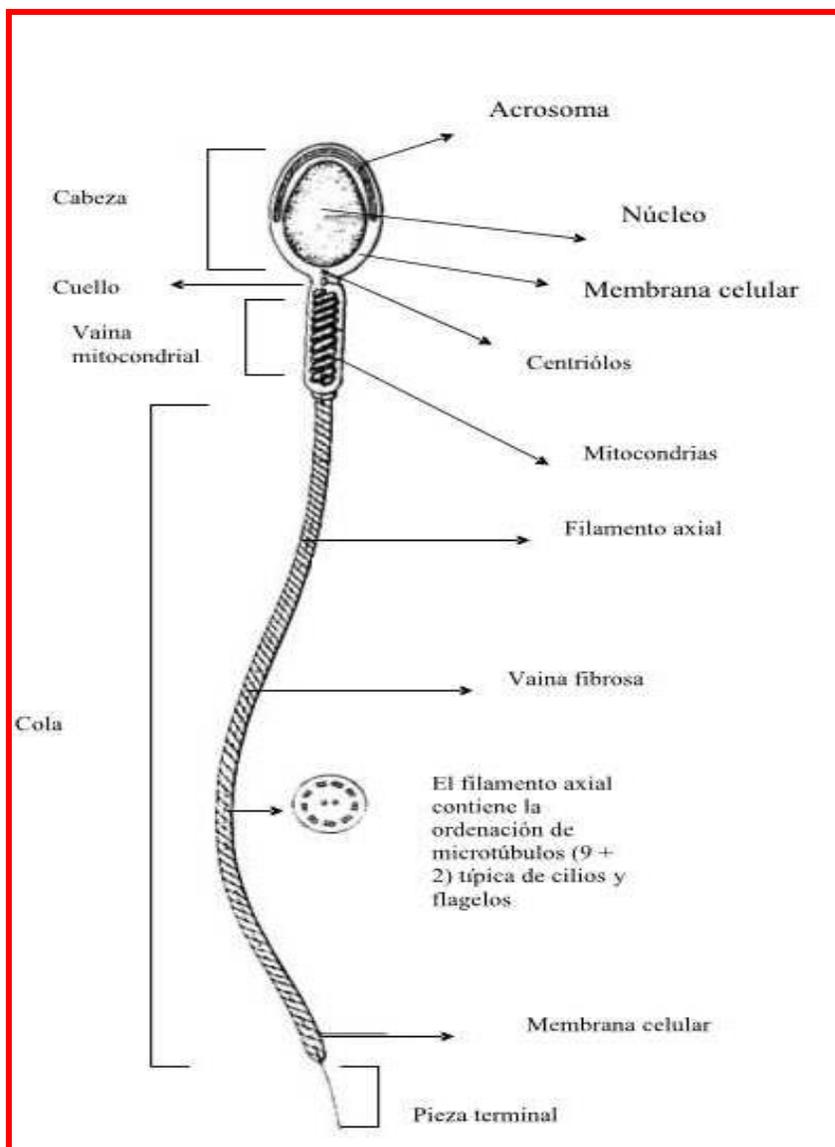
La **frecuencia de utilización**, en muchos Centros de Inseminación Artificial, solamente se hace dos recogidas por semana o tres en quince días, al ritmo de dos eyaculados por sesión. Las diferencias individuales son considerables y las condiciones del medio y la alimentación tienen una gran importancia, (Derivaux, 1967).

Los toros utilizados con regularidad producen pocas formas anormales, por el contrario los que se dejen en reposo durante un cierto tiempo presentan un aumento de formas patológicas, (Holy, 1970).

Según Trimberger (S/f) citado por Derivaux (1967), ha comprobado que la primera eyaculación, en los toros que permanecen en reposo prolongado, contiene un espermatozoide poco concentrado, de volumen más reducido y con escasa motilidad de sus espermatozoides. Se deberá pues vigilar la regularidad del ritmo sexual para evitar tanto los peligros de un trabajo excesivo, como los de un reposo prolongado.

**El clima**, puede afectar la espermatogénesis y la libido. Por clima es necesario entender temperatura y sus modificaciones: luz, grado de humedad y vientos. Los machos transportados de una región templada a otra de clima tropical disminuyen su fertilidad e incluso la pierden, la espermatogénesis y la libido se ven comprometidas durante varios meses y muchas veces su curación y restablecimiento resulta muy problemático, (Derivaux, 1967; Holy, 1970).

El nemaspermo puede realizar sus funciones biológicas fundamentales sólo cuando esta cualitativa y morfológicamente bien constituido (Figura 14), es decir cuando posee la estructura típica de la cabeza, cuello, parte intermedia y cola, (Holy, 1970).



**Figura 14. Estructura Espermatozoide Bovino Normal, (Rodríguez, 1974).**

**La nutrición** influye sobre la reproducción en el macho. Los jóvenes son más sensibles a las deficiencias alimentarias que los más viejos. Las dos causas principales de alteración de la capacidad reproductora en el macho son la subalimentación y la deficiencia de vitamina A, (Cole y col., 1984).

En el toro, verraco y carnero la subalimentación prolongada ha sido causa de disminución o interrupción de la espermatogénesis, acompañada a menudo de una disminución del tamaño de los testículos y atrofia de las células intersticiales, donde queda evidenciado en las tres especies, una baja en la calidad del semen (concentración, motilidad, espermatozoides vivos, resistencia a la congelación, viabilidad y supervivencia y aumento de las anormalidades, (Salisbury y col., 1961; Cole y col., 1984; Hafez, 1996).

La mayoría de las respuestas anteriores se deben al nivel de alimentación o energía. La calidad y cantidad de proteína afectan poco la espermatogénesis, a no ser que implique una disminución en la ingestión de alimento, (Cole y col., 1984; Hafez, 1996).

La deficiencia de vitamina A inhibe la espermatogénesis y afecta desfavorablemente a la calidad del semen y a la fertilidad, en forma análoga como lo hace la subnutrición, (Sorensen, 1982).

La deficiencia de caroteno o vitamina A de la dieta, provoca degeneración testicular en todos los animales de granja. El efecto de la vitamina A en los testículos probablemente es indirecto y se debe a la supresión de la liberación de las gonadotrofinas hipofisarias, (Hafez, 1996).

La producción de esperma, la calidad del semen y la fertilidad de óvidos y bóvidos es sensible a los siguientes oligoelementos Cu, Co, Zn, Mn e I y al I la calidad del semen de los sementales, (Cole y col., 1984).

Hay muy poca información en lo referente a los efectos de las deficiencias de minerales en las funciones reproductoras del macho. La deficiencia de yodo se ha sospechado como causa de deficiencia de libido y de algunas características del semen en toros. También, se ha observado mejoría en la producción y fertilidad de espermatozoides, después de administrar suplementos alimentarios con cobre, cobalto, cinc y manganeso, (Hafez, 1996).

La posibilidad de fertilización del óvulo y la formación del nuevo individuo sano, depende de la composición y constitución de la cabeza que conduce la información genética y el sistema acrosomal. Sin embargo la cabeza puede realizar esta tarea solamente en dependencia de la función y constitución del sistema locomotor, como son el cuello, parte intermedia y cola, (Holy, 1970).

Las perturbaciones del desarrollo de los nemaspermos que condicionan las anomalías morfológicas se forman en el testículo durante cualquier fase del proceso espermiocitogénico o espermiogénico según Knudsen (1958) citado por Holy (1970).

## **2.8. Clasificación de las Anormalidades Espermáticas.**

Las patologías se les clasifican en anormalidades testiculares primarias y secundarias, (Derivaux, 1967; Holy, 1970; Rodríguez, 1974; Spitzer, 2002; Tríbulo y col., 2006; Ruíz, 2007).

**A.** Las anormalidades primarias, son de origen testicular, se producen durante el proceso de la espermatogénesis y en general son importantes ya que afectan seriamente la fertilidad.

Entre los defectos primarios más comunes observados se encuentran: espermatozoides de cabeza periforme, los cuales pueden deberse a hipoplasia o degeneración testicular; cabezas anormales sueltas; macro o microcefalia, debidas a divisiones nucleares anormales; cola abaxial, la cual se caracteriza porque la parte media no sale del centro de la cabeza; gota citoplasmática proximal, falta del tiempo necesario para su maduración; acrosoma encogido o doblado que afectan la fertilidad si aparece en más de un 20%, (Rodríguez, 1974; Tríbulo y col., 2006; Ruíz, 2007).

**B.** Las anormalidades secundarias, ocurren después de que el espermatozoide salió del testículo y en general son de menor importancia, a menos que sean numerosos y estas no deben sobrepasar un 10% de la muestra, (Ruíz, 2007).

Los principales defectos que pueden observarse son: la presencia de espermatozoides decapitados, que se considera grave y ocurre en la cabeza del epidídimo, acrosoma degenerado, casi siempre por mal manejo del semen; gota citoplasmática distal y colas enrolladas, (Rodríguez, 1974; Ruíz, 2007).

Las anomalías morfológicas pueden interesar a las tres partes del espermatozoide: cabeza, cuello y cola, (Derivaux, 1967).

- a) **Anomalías de la cabeza:** comprende las anomalías de forma, de dimensión, de volumen, de duplicidad, de posición o estructura de la cofia anterior (cofia desprendida).

Las cabezas de dimensiones reducidas no parecen estar en relación con los procesos inflamatorios de los testículos o de los canales excretores; las microcefalias no tienen significación particular y representan un accidente relativamente raro del desarrollo.

Existe una gran variación de formas y tamaños entre los espermatozoides con microcefalia y macrocefalia. Aunque ésta es bastante común, generalmente se encuentran en proporción muy pequeña. Aparentemente estos defectos son ocasionados por una distribución desigual de los cromosomas durante la meiosis y generalmente la mayoría de estas células mueren o son fagocitadas por las células de Sertoli antes del llegar al estadio de espermátide. Esta es la razón por

la cual no se encuentran en altos porcentajes en el extendido de semen, (Tríbulo y col., 2006).

Las cabezas dobles son relativamente raras; no son causa de infecundidad del macho y no se las puede considerar como indicadoras de lesiones testiculares, (Derivaux, 1967).

Se pueden encontrar espermatozoides decapitados en pequeño número en semen normal. Este defecto puede ser producido por envejecimiento o por un defecto de implantación de la cola en la placa basal. Cuando se encuentra en mayor cantidad, están asociados con defectos en la termorregulación del testículo (toros gordos) y en estos casos es producido, aparentemente, por un defecto en la espermiogénesis, (Tríbulo y col., 2006).

b) **Anomalías del cuello:** se pueden observar anomalías en la conformación de la base de la cabeza y en la implantación de la cola, en la fractura del cuello, así como en la pérdida de la cola y persistencia de la gota citoplasmática.

Casi todos los espermatozoides que se encuentran en la cabeza del epidídimo tienen una gota citoplasmática en esta posición. Luego, a medida que van descendiendo hacia la cola del epidídimo el noventa por ciento de los

espermatozoides tienen esta gota citoplasmática en la parte distal, (Tríbulo y col., 2006).

Los espermatozoides a la salida de los túbulos seminíferos y en el momento en que alcanzan la cabeza del epidídimo se encuentran provistos de una pequeña gota protoplasmática. Localizada en el cuello, mientras el espermatozoo permanece en la cabeza del epidídimo esta gota se desliza a lo largo de la pieza intermedia hasta alcanzar su extremidad posterior, momento que coincide con la llegada del espermatozoide a la cola del epidídimo; los zoospermios se desembarazan de éstas mientras atraviesan los conductos y ampollas deferentes, (Derivaux, 1967).

Una alta incidencia de gotas proximales se puede ver en toros jóvenes que no han atravesado completamente el período de pubertad. En toros adultos, las gotas proximales en el eyaculado son un signo de disturbio de la función del epidídimo o testículo. Se puede observar un aumento agudo del número de gotas proximales siete a diez días después del estrés en toros adultos, indicando que se han afectado los espermatozoides que se encontraban transitando por el epidídimo. No obstante condiciones más graves pueden afectar la espermatogénesis y causar un aumento en la incidencia de las gotas proximales dos a cuatro semanas después, (Barth, 1994).

En estudios de fertilización in vitro se comprobó que los espermatozoides bovinos con gotas citoplasmáticas proximales tenían una tasa muy baja de progresión y dificultades en fertilizar el ovocito, debido a fallas en la unión a la zona pelúcida. Además, los resultados de los ensayos mostraron que aquellos que fertilizaron tuvieron una capacidad reducida para iniciar el clivaje. Por otro lado, los espermatozoides aparentemente normales que se encuentran en el mismo eyaculado también tienen deficiencias funcionales ya que fallan en la unión al ovocito y fertilización, lo cual sugiere que la presencia de este defecto en el eyaculado es un síntoma de dificultad en la maduración espermática que podría afectar a todos los espermatozoides, (Tribulo y col., 2006).

Según Rodríguez (1974), explica que, las espermátidas en estos momentos, no han tenido el tiempo necesario para transformarse en nemaspermos maduros y libres, de estas porciones protoplasmáticas. Por lo señalado, a estos nemaspermos, con gotas protoplasmáticas, se debe considerar como nemaspermos no maduros. Se presenta mucho esta anomalía en el semen de los sementales a los que se les practican las extracciones seminales en forma muy frecuente.

c) **Anomalías de la Cola:** Su significación ha sido y es muy discutida: son consideradas como anomalías graves, las colas muy dobladas y que dan varias vueltas alrededor de la cabeza. Las colas dobladas en ciento ochenta grados constituyen una anomalía frecuente que la

mayoría de las veces sería debida, sin embargo, al frío o a artificios de la técnica; así, esta anomalía, no deberá ser considerada como indicador de un trastorno grave nada más que cuando se presenta en un tanto por ciento muy elevado o vaya acompañado de otras alteraciones. Cuando la flexión es verdadera, un tanto por ciento de espermatozoides posee la gota citoplasmática en el lazo formado por la flexión, (Derivaux, 1967).

Las piezas media distal doblada se produce generalmente en la cola del epidídimo. Las fracturas de la pieza intermedia o curvas dobles, se originan probablemente en los últimos pasos de la espermatogénesis. No obstante son generalmente encontrados junto con los defectos generados en el epidídimo. Se encuentran comúnmente espermatozoides con pieza media doblada en los toros estresados. La mayoría de los toros se recuperan rápidamente cuando se solucionan las causas del estrés. No obstante, hay algunos toros que evidencian este defecto de acuerdo a la estación. En Canadá se han encontrado toros que presentaban este defecto en el invierno pero esta condición se revertía cuando llegaba el verano, (Tríbulo y col., 2006).

La pieza principal doblada, defecto el cual se ve que la pieza principal se encuentra doblada haciendo un rulo inmediatamente distal del ánulo. Se encuentra generalmente asociado con la presencia de espermatozoides con las piezas medias dobladas. En la mayoría de los casos se ve una gota

citoplasmática distal en el centro del rulo. Este defecto aparentemente se origina en el epidídimo y no hay que confundirlo con el defecto producido por el shock hipotónico o por estrés por frío de los espermatozoides, (Tríbulo y col., 2006).

El shock hipotónico, defecto producido cuando se exponen los espermatozoides por demasiado tiempo al efecto de la tinción con eosina-nigrosina y generalmente se producen cuando los cubre objetos están fríos. También la contaminación con orina puede producir este defecto. Esta se puede observar como una "curva pronunciada" en la pieza principal y en algunos casos severos puede llegar a afectar la pieza media. Si tenemos una alta incidencia de este defecto y no estamos seguros de la causa, sería aconsejable realizar un segundo extendido, (Barth, 1994).

## **2.9. Evaluación Viabilidad Post Descongelación**

El resultado de la inseminación artificial es consecuencia de una serie de factores correlacionados. Entre ellos se encuentra la calidad seminal. Cuando se inseminan hembras fértiles, con una condición corporal adecuada, el programa de I.A. resultara exitoso si se cuenta con un sistema de detección de celo eficiente o sincronización de celo, si la técnica de inseminación es realizada por personal idóneo y si se utiliza semen de buena calidad, (Barth, 1994).

Es de suma importancia evaluar la Calidad Seminal del Semen Congelado antes de programar un sistema de IATF ya que uno de los factores que más interviene en los resultados es la Calidad del semen que tiene que ser Muy Bueno o Excelente. La evaluación de la Calidad Seminal debe hacerse siempre antes de iniciar un protocolo de Sincronización, (Bó y col., 2008).

Woelders citado por Verano y col. (S/f), menciona que la evaluación de la calidad seminal es una de las herramientas en el estudio de la fertilidad de nuestros animales domésticos. En este sentido se han desarrollado un gran número de sofisticadas pruebas que analizan las diferentes funciones de la célula espermática.

El semen al ser congelado sufre una serie de procesos que pueden alterar la calidad del semen original. Muchas veces semen de alta calidad al momento de la congelación ha resultado en semen de mediana y baja calidad al ser descongelado. De aquí, la importancia de evaluar el semen luego de la congelación, (Decuadro-Hansen, 2004; Bó y col. 2008).

Los resultados de los experimentos de inseminación son siempre el mejor reflejo de la calidad seminal. El evaluador debe tener un cuidado extremo y trabajar en forma ordenada con cada muestra para no tener evaluaciones erróneas. Ocasionalmente ha pasado que toros de alta performance, campeones en

exposiciones y de la más alta progenie produce semen insatisfactorio, (Verano, S/f).

Muchas pruebas han sido diseñadas con el objeto de evaluar la calidad seminal. Algunas de ellas en base a la motilidad y a la morfología. Otras suman a estos parámetros la integridad del acrosoma, concentración, microbiología, propiedades químicas, bioquímicas, y la viabilidad in vitro o in vivo, (Bó y col., 2008).

Es indispensable encontrar una fuente de semen apropiada; procurar que las mismas sean de calidad reconocida, (Sorensen, 1982).

Además es conocido como menciona Catena y col. (1999), que aunque se parta de un semen comercial de alta calidad, la viabilidad de los espermatozoides puede verse afectada durante la distribución y el almacenamiento, si en estas etapas no se realiza un cuidadoso manejo del producto y no se verifican los controles de calidad rutinarios del semen.

También es conocido que las entidades gubernamentales de los países exportadores de semen han implementado normas estrictas para asegurar que los toros residentes de los centros de recolección sean toros libres de enfermedades y así garantizar que el semen no sea portador de agentes patógenos, muy por el contrario sucede con aspectos tales como las características seminales que

garantizan una buena calidad fertilizante; en las cuales las normas exigidas son muy mínimas, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004).

Las normas como las ISO 9002 establecidas en centros de recolección e inseminación artificial dictan exigencias mínimas sobre parámetros de viabilidad post-descongelación lo que nos refleja la existencia de diferencias en la calidad del semen existente en el mercado, (Catena y col., 1999).

El semen utilizado para la producción de pajuelas ya tiene su apto reproductivo, por lo tanto la evaluación post descongelado tiene como finalidad conocer si ese semen fue capaz de superar el proceso de congelación-descongelación. Los factores que pueden afectar los valores de evaluación corresponden a factores intrínsecos del semen, o factor de manejo, falta de Nitrógeno líquido en el termo de almacenamiento, (Verano y col. s/f).

El poder fecundante del semen eyaculado así como su calidad “tecnológica” (aptitud para soportar la crio conservación) es fruto de la calidad intrínseca del esperma del toro y del efecto del medio ambiente inmediato (técnica y frecuencia de colecta, estación del año, estrés, enfermedad transitoria). Finalmente la calidad del esperma depende de la interacción de un factor propio del toro (genético) y del efecto “medio ambiente”, (Decuadro-Hansen, 2004).

La situación actual, caracterizada por una alta competencia, hace que cada Centro de Inseminación Artificial quiera obtener el máximo provecho de sus reproductores, sacando mayor cantidad de dosis de cada eyaculado. Es común observar en el semen de toros de alto valor genético de razas lecheras, que el número de espermatozoides por dosis se ajusta de acuerdo a los datos de no retorno a celo de vacas inseminadas que los centros reciben periódicamente, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004).

#### **2.10. Efecto del Congelado y el Descongelado sobre las Células Espermáticas**

Sin tener en cuenta la complejidad de los procesos biológicos que ocurren dentro de la célula, la congelación es un proceso parecido a una deshidratación de la célula. La cristalización del agua comienza con la formación de núcleos. Un núcleo es la agregación de moléculas que han perdido energía debido a la baja temperatura y que adquieren una forma particular a la cual se adhieren nuevas formaciones de cristalización. La formación de núcleos de agua pura ocurre entre los -3 y -45 °C, (Bó y col., 2008).

Cualquier partícula extraña dentro del agua puede actuar como un núcleo y así resultar en la cristalización. Una vez que la cristalización ha sido completada otro fenómeno similar puede ocurrir, la re cristalización. La re cristalización es el crecimiento de grandes cristales de hielo a expensas de los pequeños cristales. Este proceso ocurre cuando el descongelado es lento. Aunque el punto de congelación celular es por debajo de los -10 °C, las células permanecen sin

congelarse hasta los  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Durante la congelación las células comienzan a equilibrarse con el medio debido a la pérdida de agua intracelular. Esta deshidratación resulta en una disminución de la presión intracelular y un incremento en la concentración del soluto.

Los mecanismos por los cuales se causa daño celular durante la congelación son resumidos como sigue:

- Ruptura mecánica de los elementos celulares por la formación de cristales.
- Desnaturalización por la alta concentración de electrolitos.
- Cambios en el pH.
- Deshidratación excesiva que precipita las proteínas de la solución.
- Deshidratación que lleva a las proteínas al contacto y la producción de uniones anormales.
- Efecto sobre la remoción de agua estructuralmente importante de la célula, (Bó y col., 2008).

El punto crítico durante la congelación y la descongelación son las temperaturas de  $-10$  a  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Por lo tanto es importante atravesar esta zona rápidamente. Se ha comprobado que la descongelación rápida posee mejores resultados que la lenta, (Bart y col., 2007).

### 2.11. Manejo del Semen Congelado.

La calidad del semen congelado, cuando llega a la finca es determinada por el toro y la organización que lo ha procesado. Una vez en las manos del ganadero es responsabilidad de él, tomar las medidas necesarias para garantizar su viabilidad. El semen congelado puede almacenarse indefinidamente, en caso de que se mantenga constantemente a temperaturas muy bajas. La temperatura crítica es de aproximadamente  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Esperma, que se está expuesto a temperaturas más cálidas de  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  (incluso durante un corto período de tiempo), y luego se regresa al tanque de almacenamiento, puede ser dañado. La magnitud de los daños depende de cuánto tiempo el esperma está expuesta a las altas temperaturas (Figura 15). Aunque es fácil de mantener congelado el semen a una temperatura segura, también es fácil de destruir en unos instantes de descuido, (Selk, 2002).

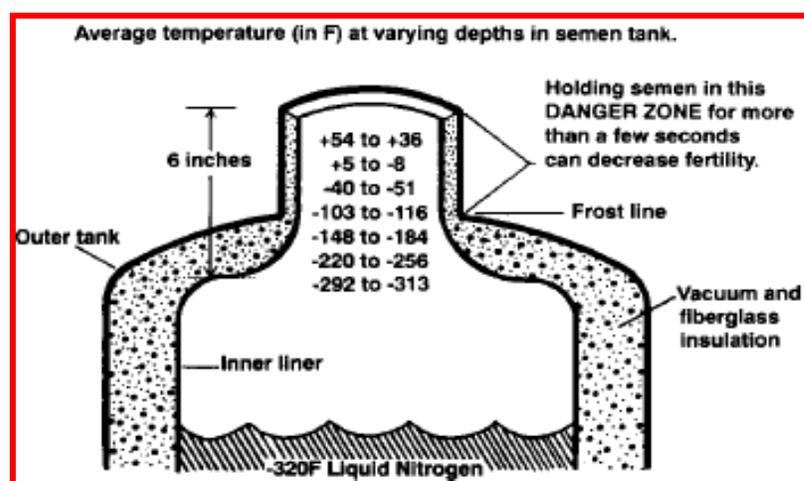


Figura 15. Zona de Peligro en el Tanque, (Selk, 2002).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación:** El estudio se realizó en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias de Panamá (IDIAP) sede Gualaca Estación Experimental Carlos M. Ortega.

**Metodología de Evaluación:** para el desarrollo de este trabajo se inició con la selección de tres fuentes distribuidoras de semen congelado. De cada compañía se seleccionaron cinco razas entre: Simmental, Charoláis, Brahaman, Blonde D'Aquitaine, Beef Master, Angus Rojo, Angus Negro, Limosin, Nelore y Senepol y de cada raza se seleccionaron tres toros de cada raza.

Una vez descongelada la pajuela se colocó una gota de semen sobre un porta objetos y se colocó un cubre objeto encima de este para observar la motilidad y vigor de la muestra. El resto de la muestra se vertió en un tubo y se mantuvo en baño María para conservarlo a treinta y siete grados centígrados y poder realizar una evaluación de la motilidad dos horas posteriores al descongelado, (Tribulo et al. 2006).

Tres pajuelas de semen por toro en presentaciones de 0.25ml y 0.50ml fueron tomadas para realizar la evaluación. Entre las razas evaluadas tenemos: Wagyu (WA), Hereford (HP), Beef Master (BM), Angus Negro (AN), Holstein (HO), Angus

Rojo (AR), Brahaman (BR), Simmental (SM), Charoláis (CH), Senepol (SE), Brown Swiss (BS), Gelvbieth (GV), Blonde D`Aquitaine (BL) y Normando (NO).

### **Variables de Calidad del Semen.**

Según Fortín (1998) para determinar estas variables debemos contar con un microscopio, una platina térmica y un baño María. En la evaluación de estas muestras de semen se tomaron como variables las siguientes:

- A. Viabilidad post-descongelación
- B. Morfología.
- C. Número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis inseminante.

### **Evaluación Seminal**

#### **A. Viabilidad Post-Descongelación:**

Esta se calculó mediante el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva y el vigor espermático, (Barth, 1994).

#### **Examen de Motilidad:**

Los porcentajes de motilidad progresiva y el vigor son determinados inmediatamente después de descongelado el semen y luego de dos horas de incubación a treinta y siete grados centígrados. Se colocó una gota de semen delgada y uniforme sobre un portaobjeto y se fijó con un cubre objeto, se evaluó al microscopio con aumento de 100x y se observó el porcentaje de espermatozoides,

con motilidad progresiva y luego la tasa de progresión (vigor o velocidad de progresión).

Para motilidad progresiva y vigor se utilizó una tabla de calificación de cero a cinco, (Barth, 1994).

0= sin movimiento

1= ligera ondulación o vibración de cola, sin progresión.

2= progresión lenta, incluyendo detención y comienzo de movimiento.

3= movimiento progresivo y continuo con velocidad moderada.

4= movimiento progresivo y rápido

5= movimiento progresivo muy rápido en el cual es difícil seguir visualmente.

El semen de buena calidad, que ha sido descongelado y estudiado inmediatamente, deberá tener de un 40 a 50 por ciento de espermatozoides con motilidad progresiva y un vigor de tres a cuatro. Después de dos horas de incubación estos valores pueden haber disminuido en un 10 a 15 por ciento en Motilidad Progresiva y en un uno punto en vigor, (Catena y col., 1999)..

### **B. Morfología Espermática:**

El análisis morfológico de los espermatozoides es uno de los principales componentes de la evaluación de las características de una muestra seminal. La valoración de la morfología del espermatozoide se basa en la relación directa

que haya entre la proporción de espermatozoides anormales en el eyaculado, el tipo de defecto morfológico y su relación con la fertilidad in vivo de los toros.

Atendiendo a una clasificación estrictamente morfológica, las anomalías que puedan generarse se clasifican en anomalías en la cabeza, en el tracto intermedio y en la cola. Según el órgano donde pueden haberse generado diferenciamos las anomalías primarias y secundarias, (Rodríguez, 1974; Holy, 1970).

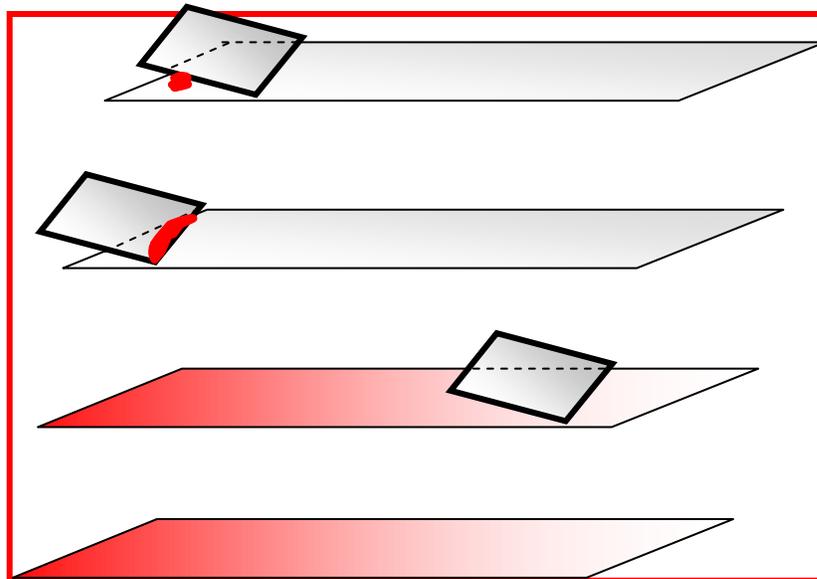
Según Barth (1994), debido a que la mayor parte de las muestras de semen en general, siempre muestran una cierta cantidad de anormalidades morfológicas lo que no se asocia con infertilidad cuando la proporción de dichas anormalidades no excede del 20 al 30 por ciento del total de la muestra.

Para evaluar la morfología espermática se colocó la muestra de semen con eosina-nigrosina. Luego se calculó el porcentaje de espermatozoides con o sin anormalidades morfológicas y porcentaje de vivos y muertos.

La tinción de eosina-nigrosina tiñó a los que estaban muertos al momento de la tinción de rojo con la eosina y la nigrosina sirvió de contraste.

Una vez se descongeló la pajueta, se colocó una gota de semen sobre un porta objetos a temperatura de treinta y siete grados Centígrados, de igual manera el tinte a utilizar

estuvo a la misma temperatura para no causar imperfecciones en la tinción (Figura 16), el secado de la placa se realizó lo más pronto posible.



**Figura 16. Forma Correcta de Hacer la Extensión del Semen sobre el Portaobjeto.**

### **Clasificación de Defectos Espermáticos:**

Las Malformaciones Espermáticas, se las puede clasificar siguiendo diferentes criterios:

#### **1) Primarias y Secundarias**

Es la clasificación más usada en la bibliografía. Las malformaciones primarias por definición, son aquellas que se originan dentro del testículo durante la espermatogénesis y malformaciones secundarias son aquellas que se originan dentro del epidídimo; cabe destacar que por definición se denota el origen y no la severidad del defecto, (Derivaux, 1967; Holy, 1970; Rodríguez, 1974; Spitzer, 2002; Tríbulo, 2006; Ruíz, 2007).

## **2) Mayores y Menores**

Esta clasificación la propuso Bloom (1967) citado por Rodríguez, (1974), y llamó malformaciones mayores a aquellas que estaban asociadas con infertilidad y malformaciones menores a aquellas que, al momento de crear el método de clasificación, no se encontraban relacionadas con la fertilidad en forma directa.

## **3) Compensables y no Compensables**

En 1994 Saacke y col. citados por Bó y col. (2008), y Decuadro-Hansen (2004), propusieron clasificar los defectos como compensables a aquellos en los que el espermatozoide no llega a la vecindad del ovocito y no evita que otro espermatozoide realice la fertilización; por lo tanto si se aumenta la concentración de la dosis seminal, se podría llegar a compensar este tipo de malformación, tal es el caso de espermatozoides con problemas en el sistema de locomoción. Un defecto no compensable es aquel en el cual el espermatozoide está perfectamente capacitado para llegar hasta el ovocito, realiza el bloqueo de la polispermia pero es incapaz de continuar el proceso de fertilización.

En nuestro estudio usamos la clasificación correspondiente a malformaciones espermáticas primarias y secundarias, (Rodríguez, 1974; Spitzer, 2002).

---

**MORFOLOGIA ESPERMÁTICA**


---

**Anormalidades Primarias**

- Subdesarrollados
- Formas dobles
- Defectos acrosomal
- Cabezas angostas
- Defecto  
cráter/diadema
- Defecto forma de pera
- Contorno anormal
- Gota proximal
- Gota fuertemente  
enrollada
- Flagelos accesorios

**Anormalidades Secundarias**

- Cabezas pequeñas  
anormales
  - Cabezas anchas pequeñas y  
gigantes
  - Cabezas normales libres
  - Membranas acrosomal  
sueltas, plegadas, desprendida
  - Implantación abaxial
  - Gota distal
  - Flagelo doblado
- 

Un conteo de cien células por muestra es satisfactorio cuando no existen problemas mayores. Cuando un gran número de defectos espermáticos está presente, hasta quinientas células por muestra deben ser contadas para obtener un

espermograma preciso. Se exige un setenta por ciento de células normales, (Rodríguez, 1974; Catena y col., 1999).

### **Interpretación de Patologías:**

De acuerdo a Hafez (1996), los parámetros a evaluar para nuestro estudio fueron los siguientes:

1. Anormalidades en la cabeza: desprendida, doble, amorfa, tamaño.
2. Inclusiones citoplasmáticas: adheridas a las partes anterior y distal del segmento medio.
3. Anormalidades de la cola: enrollada, fuertemente enrollada, doblada y fuertemente doblada.
4. Porcentaje de espermatozoides muertos.
5. Porcentaje de espermatozoides vivos.

Para el cálculo del porcentaje de espermatozoides vivos y muertos se contaron cien células. La tinción de eosina-nigrosina tiñó a los que estaban muertos al momento de la tinción de rojo con la eosina y la nigrosina sirvió de contraste.

### **Número de Espermatozoides con Motilidad Progresiva (NEMP) por Dosis Inseminante:**

Se obtuvo de multiplicar el número de espermatozoides totales (NET) por el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (% EMP) a la hora 0 post descongelación, (Catena y col., 1999).

$$NEMP = NET / \%EMP$$

Número de espermatozoides totales según Tríbulo et al. (2006), se tomaron 50 micro litros de semen al cual se agregó a este 10,000 micro litros de solución fisiológica dilución 1:200, y se homogenizó. Se llenó la cámara de Neubauer y dejó reposar por cinco minutos para realizar el conteo. Realizado el conteo, el número de espermatozoides resultante se dividió entre cuatro ( $N^{\circ}$  células/4) este es el número usado en la fórmula.

$N^{\circ}$  espermatozoides X 10 (altura del cuadro) X 1000 (pasaje a mililitro) X 200 (dilución)  
=  $N^{\circ}$  espermatozoides/ml.

Los parámetros para la motilidad espermática progresiva al descongelado, dictan que la dosis inseminante debe tener como mínimo ocho a seis millones de espermatozoides tanto en pajuelas de 0.25 ml como en las de 0.50 ml, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004).

#### **Variables de Respuesta:**

Porcentaje de motilidad espermática a la cero y dos horas post descongelación junto con el vigor espermático a la cero y dos horas post descongelación, una gota de semen delgada y uniforme fue colocada entre porta y cubre objeto tibio procediendo a evaluar a cien aumentos.

Porcentaje de patologías espermáticas primarias y secundarias, terminado el conteo en el microscopio, se sumaron todas las patologías encontradas y se obtiene el por ciento que representan todas las patologías dentro del total de nemaspermo que se contaron (doscientas células). El porcentaje se determinó con una simple operación matemática de regla de tres, (Rodríguez, 1974).

Porcentaje de vivos y muertos, se contaron cien células y por una operación de regla de tres se obtuvo los porcentajes de espermatozoides vivos y muertos.

La concentración espermática obtenida del recuento de la cámara de Neubauer junto con las motilidades se obtuvo la motilidad progresiva a la cero y dos horas post descongelado el semen.

**Modelo estadístico:**

Los datos del ensayo se analizaron con un diseño completamente al azar anidado, con el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + R_j(C_i) + E_{ijk}$$

**$Y_{ijk}$** : es la variable de respuesta

**$\mu$** : es la media general

**$C_i$** : efecto de la diferencia entre fuentes

**$R_j(C_i)$** : efecto de la diferencia entre razas dentro de las fuentes

**$E_{ijk}$** : es el error aleatorio

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuestro estudio concluyo con un total de once variables a mencionar: concentración espermática, motilidad a la cero hora post descongelación, vigor a la cero hora post descongelación, motilidad a las dos horas post descongelación mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados, vigor a las dos horas post descongelación mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados, motilidad progresiva a la cero hora post descongelación, motilidad progresiva a las dos horas post descongelación, número de espermatozoides vivos post descongelación, número de espermatozoides muertos post descongelación, anormalidades espermáticas primarias y anormalidades espermáticas secundarias.

**CUADRO I. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS SOBRE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	5.96	8.51	17.06	<0.0001
<b>Fuente (raza)</b>	16	7.17	4.48	8.99	<0.0001
<b>Error</b>	71	3.54	4.99		
<b>Total</b>	93	1.68			

**CV: 22.39%**

Como resultado para la concentración espermática vemos que existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre fuentes estudiadas, como también tenemos que diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre las fuentes anidadas de cada raza en cuanto a la concentración espermática, siendo estos los datos originales teniendo un coeficiente de variación de 22.39 por ciento para nuestro estudio.

Dentro de la concentración espermática encontramos que las fuentes se ajustan muy bien a las Tasas de No Retorno. Pajuelas de toros de alta calidad tendrán menor cantidad de espermatozoides por dosis inseminante. A mejor calidad del semen (viabilidad post descongelado, patologías) se puede ajustar la concentración a favor de la fuente y obtener una mayor cantidad de pajuelas. Por otro lado toros catalogados como poco fértiles no podrán alcanzar una fertilidad correcta o comercialmente aceptable, a pesar de utilizar dosis de semen altamente concentradas en espermatozoides, (Decuadro-Hansen, 2004).

Esto es un dato muy importante que logramos corroborar en nuestro estudio, pajuelas de toros de alta demanda o semen de toros de nueva introducción en nuestro país, donde mostraban una buena o excelente viabilidad post descongelación (motilidad y vigor espermático al descongelado y pasada dos horas en prueba de termo resistencia) y bajo o aceptable porcentaje de espermatozoides con patologías espermáticas totales (<30%) aumentando la concentración espermática podrían compensarse ciertas anomalías espermáticas si se encontraran presentes según lo propuesto por Saacke y

col., (2004) citados por Bó y col., (2008), y así no verse afectada la fertilidad del semen y poder comercializarse.

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas para la concentración espermática muestra que para la Fuente 3 con una media de 63, 400,000.0 fue la mayor y difirió significativamente ( $P < 0.01$ ) con todas las otras fuentes evaluadas, las cuales entre si no difieren ( $P > 0.05$ ) estadísticamente.

**CUADRO II. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES DISTRIBUIDORAS, PARA LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados de la concentración espermática.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
3	63400000.0	a
5	33625000.0	b
6	33375000.0	b
2	31977056.0	b
4	29096978.0	b
7	24500000.0	b
1	18625000.0	b
8	17875000.0	b

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Entre mejor viabilidad post descongelación (motilidad y vigor espermático al descongelado y pasada dos horas en prueba de termo resistencia o baño María a treinta y siete grados centígrados) la fuente puede a su favor ajustar la concentración y obtener mayor número de pajuelas por toro. Recordando que solo se requieren cerca de seis a ocho millones de espermatozoides con motilidad progresiva al descongelado según Decuadro-Hansen (2004), para asegurar la fertilización del ovocito como menciona Catena y col., (1999). En nuestra evaluación las fuentes distribuidoras evaluadas se encuentran dentro de los parámetros aceptables para la concentración espermática por dosis inseminante en pajuelas de 0.25 ml (20 millones) y 0.50 ml (30 millones), (Decuadro-Hansen, 2004).

Como se muestra en el cuadro II, la Fuente 3, aumento enormemente la concentración de la pajueta teniendo diferencia significativa con el resto de las fuentes, buscando quizás compensar patologías espermáticas como menciona Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), y comercializar su producto.

Los espermatozoides con patologías compensables no afectarían la fertilidad del semen, teniendo esta referencia es que encontramos que fuentes distribuidoras puedan elevar la concentración. Sumado a que el semen debe tener una buena o excelente

motilidad y vigor al descongelado (>40% espermatozoides con motilidad progresiva y un vigor de tres como menciona Verano y col., (S/f).

**CUADRO III. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA (DATOS TRANSFORMADOS LOGARÍTMICAMENTE) DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	3.83	0.54	11.43	<0.0001
<b>Fuente (raza)</b>	16	5.22	0.32	6.81	<0.0001
<b>Error</b>	71	3.40	0.04		
<b>Total</b>	94	12.55			

**CV: 1.27%**

Con los datos transformados logarítmicamente sobre la concentración espermática se observa que existió diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre las fuentes estudiadas. De igual manera se encontró que existen diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre las fuentes anidadas en cada raza. El efecto de la transformación fue evidente resultando en un coeficiente de variación sumamente bajo 1.27 por ciento (reflejo de muy buena precisión).

Dentro de la concentración espermática encontramos que las fuentes se ajustan muy bien a las Tasas de No Retorno. Pajuelas de toros de alta calidad tendrán menor cantidad de espermatozoides por dosis inseminante. A mejor calidad del semen

(viabilidad post descongelado, patologías) se puede ajustar la concentración a favor de la fuente y obtener una mayor cantidad de pajuelas. Por otro lado toros catalogados como poco fértiles no podrán alcanzar una fertilidad correcta o comercialmente aceptable, a pesar de utilizar dosis de semen altamente concentradas en espermatozoides, (Decuadro-Hansen, 2004).

Se transformaron los datos originales a logaritmo base 10 pues los datos no se ajustaron a una distribución normal y así homogenizar varianzas.

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas para la concentración espermática transformada logarítmicamente, se observó que la Fuente 3 con una media de 17.94 fue la mayor y difirió significativamente ( $P < 0.01$ ) con todas las demás fuentes las cuales entre sí, no difirieron ( $P > 0.05$ ) estadísticamente, esto se muestra en un cuadro más claro a continuación.

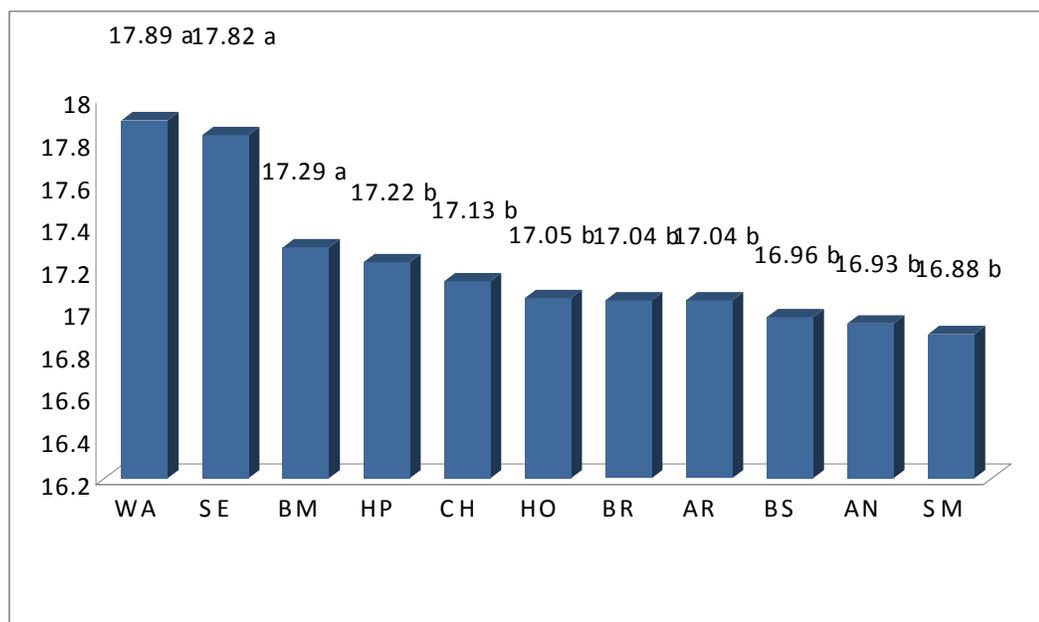
**CUADRO IV. COMPARACIONES DE MEDIAS CUADRADAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES DISTRIBUIDORAS DE SEMEN PARA LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA TRANSFORMADA LOGARÍTMICAMENTE SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados del logaritmo de la concentración.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
3	17.94	a
5	17.32	b
6	17.32	b
2	17.21	b
4	17.16	b
7	17.00	b
1	16.73	b
8	16.69	b

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Las Fuentes distribuidoras evaluadas se encuentran dentro de los parámetros aceptables para la concentración espermática por dosis inseminante en pajuelas de 0.25 ml (20 millones) y 0.50 ml (30 millones) según Catena y col., (1999) y Decuadro-Hansen (2004).

**Gráfica 1. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 2, para la concentración espermática (transformada logarítmicamente) del semen comercial.**



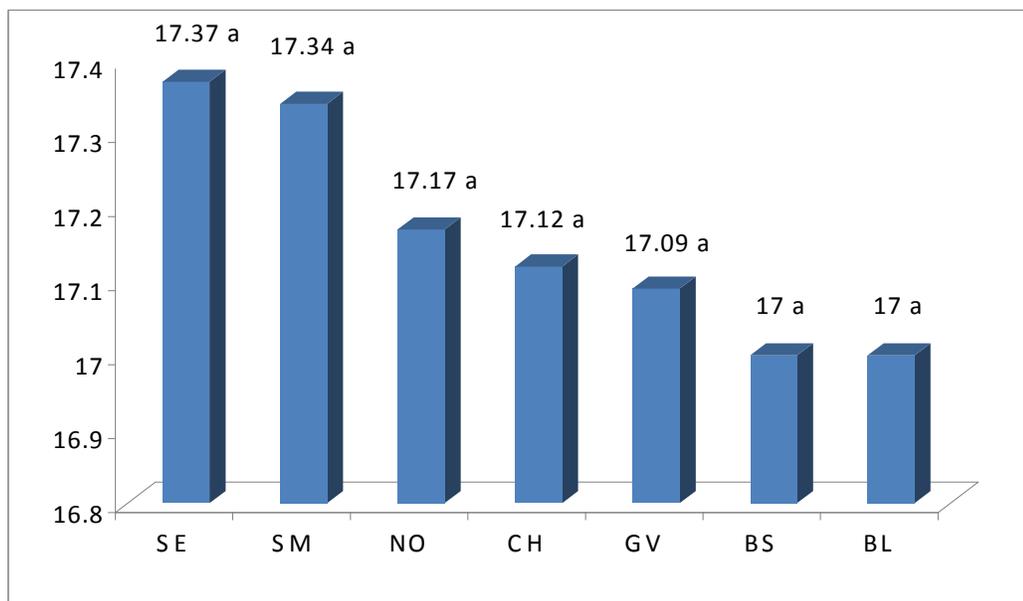
Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Como muestra la gráfica anterior el toro de la raza Wayuu (WA) fue la que mostró mayor cantidad de espermatozoides por dosis inseminante no mostrando diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con el toro de la raza Senepol (SE) y Beef Master (BM). El resto de los toros de las razas evaluadas, mostró diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) con los toros de las razas Wagyu (WA), Senepol (SE) y Beef Master (BM) pero estas no difirieron ( $P > 0.05$ ) estadísticamente entre sí.

Podemos llegar a la conclusión que para la Fuente 2 el toro de la raza Wayuu (WA) fue la mayor junto con la Senepol (SE) y Beef Master (BM) en cuanto a concentración espermática. Los toros de las razas evaluadas cumplieron con la cantidad de espermatozoides por dosis inseminante (20 y 30 millones de espermatozoides para pajuelas de 0.25 ml y 0.50 ml, respectivamente, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004).

Siendo las razas Wagyu (WA), Beef Master (BM) y Senepol (SE) las que mostraron mayor concentración, buscando la empresa, compensar según Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), ciertas anomalías encontradas en nuestra evaluación (gráfica XXI). Estos toros cumplieron con establecido por Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), mostrando una buena o excelente viabilidad post descongelación (gráficas III, V, VII, IX) y poder comercializarse sin afectar la fertilidad del mismo.

**Gráfica 2. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la concentración espermática (transformada logarítmicamente) del semen congelado bovino.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Como se observó en la gráfico anterior los toros de las razas dentro de la fuente 4, no difieren estadísticamente ( $P > 0.05$ ) entre sí, se observó que el toro de la raza Senepol (SE) fue la mayor, en cuanto a la concentración espermática del semen bovino congelado en evaluación.

Los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 4 cumplieron con los parámetros para la concentración espermática por dosis inseminante en 20 y 30 millones de

espermatozoides en pajuelas de 0.25 ml y 0.50 ml respectivamente, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004).

Encontramos en nuestra evaluación que como menciona Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), la concentración de la pajueta puede ser elevada para compensar ciertas anomalías espermáticas. Siempre y cuando el semen tenga excelente o buena viabilidad post descongelación (motilidad y vigor espermático al descongelado y pasada dos horas en prueba de termo resistencia o baño María a treinta y siete grados centígrados) siendo este el caso del toro de la raza Senepol (SE) (gráficas 4, 6, 7 Y 10). Este muestra elevado porcentaje de patologías espermáticas secundarias o compensables como se muestra en la gráfica 22. Sumado al porcentaje de patologías espermáticas primarias o no compensables (gráfica 22), el total de patologías espermáticas, no sobrepasa el 30% según menciona Barth (1994), lo cual lo cataloga como un semen apto donde no se ve afectada la fertilidad del mismo.

**CUADRO V. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	3090.23	441.46	1.16	0.3340
<b>Fuente (raza)</b>	16	20747.57	1296.72	3.42	0.0002
<b>Error</b>	73	27686.92	379.27		
<b>Total</b>	96	54662.88			

**CV: 35.81%**

Los resultados anteriores demuestran que la motilidad a la cero hora post descongelación no obtuvo efecto significativo estadísticamente ( $P > 0.05$ ) para las fuentes evaluadas. Sin embargo si existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ) estadísticamente de la motilidad a la cero hora post descongelación entre las fuentes anidadas en cada raza. El coeficiente de variación fue de 35.81 por ciento.

El semen de buena calidad, que ha sido descongelado y estudiado inmediatamente, deberá tener de un 40 a 50 por ciento de espermatozoides con motilidad progresiva aunque las normas ISO 9002 dictan que para semen congelado bovino la muestra debe tener como mínimo 25 por ciento de motilidad espermática al descongelado, (Catena y col., 1999).

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas para la motilidad a la cero hora post descongelación indica que la Fuente 3 con una media de 66.00 fue la mayor y no mostró diferencias significativa ( $P > 0.05$ ) con todas las demás fuentes, las cuales entre si no difieren significativamente ( $P > 0.05$ ).

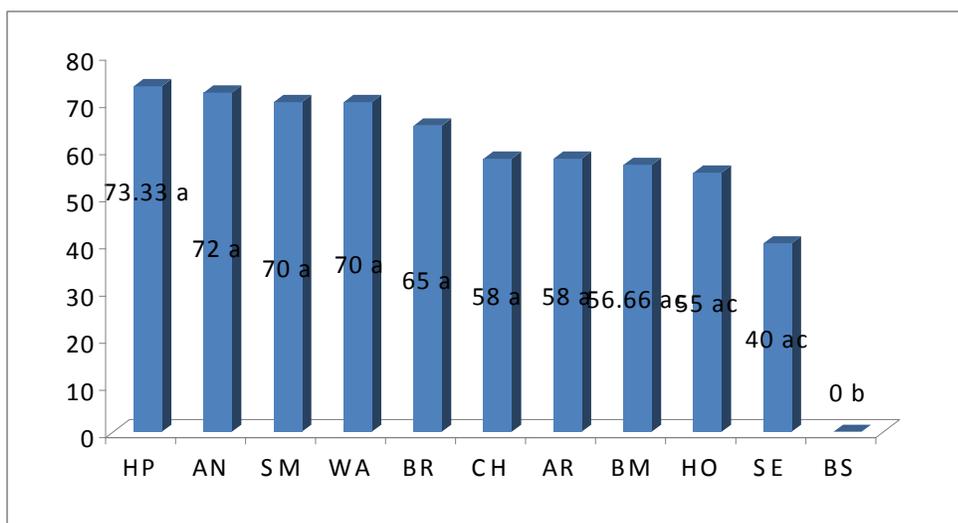
**CUADRO VI. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES EVALUADAS PARA LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE AGRUPAMIENTO LSD.**

Fuente	Medias de mínimos cuadrados de la motilidad espermática al descongelado.	Agrupamiento LSD
3	66.00	a
1	65.00	a
8	65.00	a
5	60.00	a
2	56.18	a
4	54.17	a
7	45.00	a
6	25.00	a

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Las fuentes evaluadas cumplen con los estándares o normas establecidas para la motilidad espermática al descongelado del semen bovino en evaluación del 25 por ciento como mínimo, (Catena y col., 1999). La variabilidad en cuanto a la viabilidad espermática post descongelación entre las fuentes, se debió a que existen como menciona Catena y col., (1999), que aunque se parta de semen de alta calidad, la viabilidad de los espermatozoides puede verse afectada durante la distribución y almacenaje, si no se realiza un adecuado manejo del producto. De igual manera lo menciona Selk (2002), una vez las fuentes distribuidoras entregan el semen, la viabilidad espermática es responsabilidad del productor. El manejo del semen puede ser el factor que más variabilidad pueda reflejar el semen al descongelado, sumado a factores intrínsecos como menciona Verano y col., (S/f).

**Gráfica 3. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad espermática a la cero hora post descongelado el semen bovino en evaluación.**

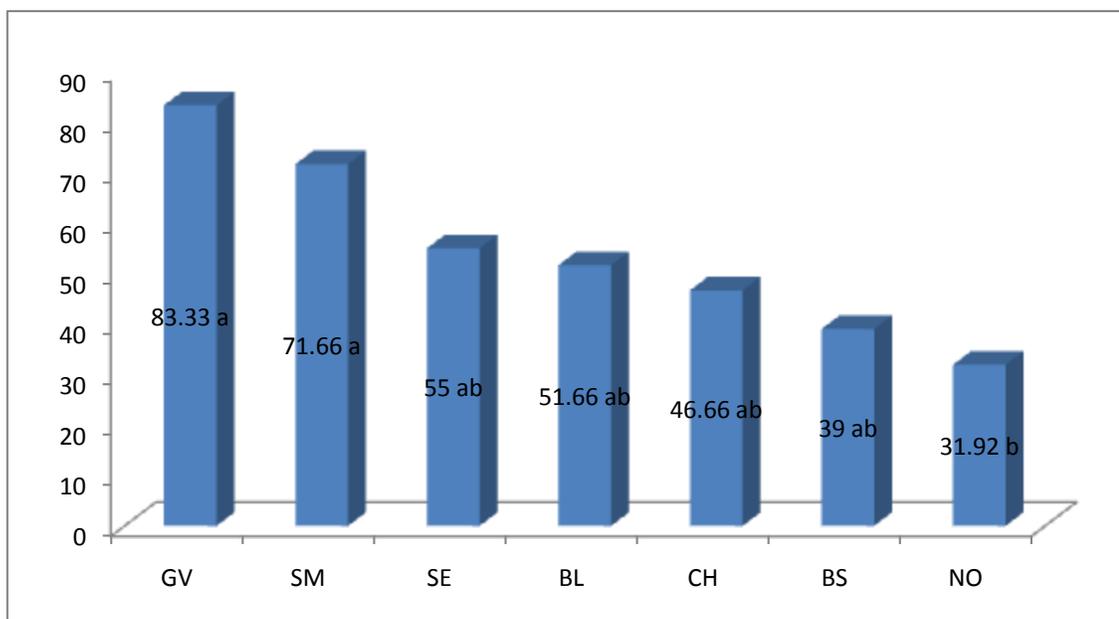


Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Hereford (HP) fue la que mostró mejor motilidad espermática al descongelado, difiriendo significativamente ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Brown Swiss (BS), éste no cumplió con los estándares establecidos para la motilidad al descongelado dentro de la Fuente 2, los toros de las otras razas, si cumplieron con los estándares establecidos para la motilidad espermática a las dos horas post descongelado el semen bovino en evaluación, (Catena y col., 1999).

En este caso sé dio un mal manejo del semen como menciona Selk (2002), o un bajo nivel de nitrógeno en el tanque tal como dice Verano y col., (S/f), para el toro de la raza Brown Swiss (BS). Los demás toros en evaluación obtuvieron valores muy buenos para la viabilidad post descongelación, (motilidad y vigor espermático al descongelado y pasada dos horas post descongelación). La variabilidad entre razas pudo ser consecuencia de factores intrínsecos del semen como menciona Verano y col., (S/f), de igual manera Decuadro-Hansen (2004).

**Gráfica 4. Comparación de medias porcentuales mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la motilidad espermática a la cero hora post descongelado el semen bovino comercial en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Gelbvieh (GV) fue la que mostró mejor motilidad espermática al descongelado del semen, teniendo diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Normando (NO).

Los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, cumplieron con los estándares establecidos para la motilidad espermática al descongelado del semen según las

normas ISO 9002, (mínimo 25 por ciento de motilidad espermática) según menciona Catena y col., (1999).

Existe variabilidad en cuanto a la motilidad espermática al descongelado, pero no se vio afectada drásticamente o al punto de no cumplir con los estándares establecidos. Esto puede deberse a factores intrínsecos del semen como menciona Verano y col., (S/f), también lo confirma Decuadro-Hansen, (2004), que semen de excelente o buena calidad al descongelado ha resultado en semen de baja o mala calidad. Esto ha sido confirmado en nuestro estudio pues existió variabilidad entre los toros de las razas evaluadas.

**CUADRO VII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS OBTENIDOS DEL VIGOR ESPERMÁTICO A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	4.83	0.69	0.41	0.8928
<b>Fuente (raza)</b>	16	76.29	4.76	2.84	0.0013
<b>Error</b>	73	122.65	1.68		
<b>Total</b>	96	207.48			

**CV: 34.82%**

El análisis anterior demuestra que no existieron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las fuentes evaluadas para la variable de vigor espermático a la cero hora post

descongelación. Sin embargo entre las fuentes anidadas en cada raza demuestra que existe un efecto altamente significativo ( $P < 0.01$ ) para el vigor espermático a la cero hora post descongelación datos obtenidos con un coeficiente de variación de 34.82 por ciento.

El semen de buena calidad, que ha sido descongelado y estudiado inmediatamente, debe tener un vigor de tres a cuatro, (Catena y col., 1999; Tríbulo y col., 2007).

Con la prueba de agrupamiento LSD para la comparación de medias corregidas para el vigor espermático a la cero hora post descongelación muestra que la Fuente 3 con una media de 4.20 fue la mayor y no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con todas las demás fuentes, las cuales entre si no difieren ( $P > 0.05$ ) estadísticamente según la prueba de comparación de medias cuadradas LSD.

**CUADRO VIII. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS DE LAS FUENTES EN ESTUDIO, PARA EL VIGOR ESPERMÁTICO A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

Fuente	Medias de mínimos cuadrados del		Agrupamiento LSD
	Vigor	espermático post	
descongelación.			
3		4.20	a
1		4.00	a
5		4.00	a
8		4.00	a
4		3.88	a
2		3.76	a
7		3.50	a
6		2.50	a

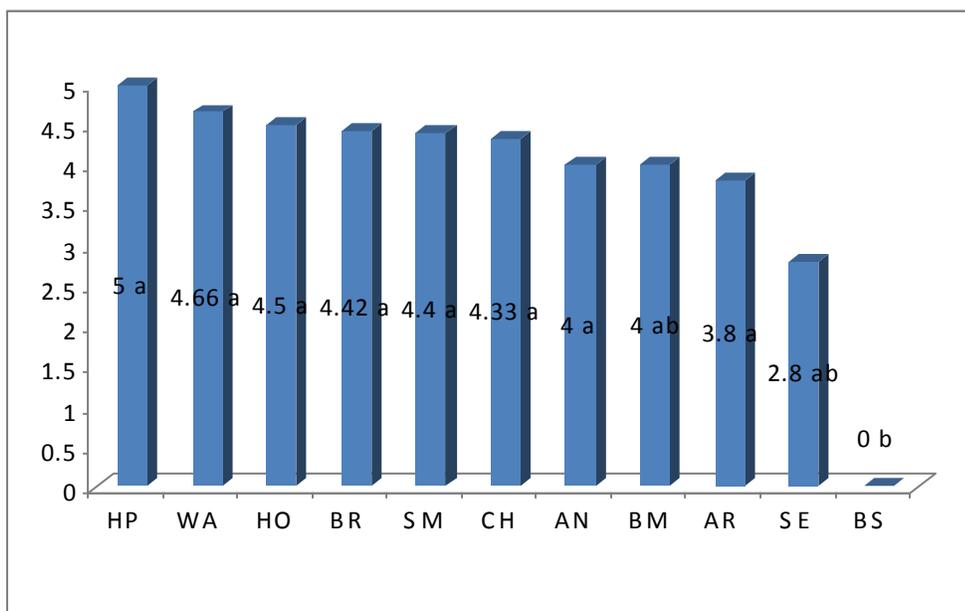
Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Todas las fuentes evaluadas sobre el vigor espermático al descongelado, cumplieron con la norma, excepto la Fuente 6 que no alcanzó los niveles mínimos de calidad del semen bovino comercial que exigen un mínimo de tres puntos para el vigor al descongelado del semen bovino, (Barth, 1994; Catena y col., 1999).

El vigor espermático puede verse afectado al igual que la motilidad espermática por factores intrínsecos del semen tal como menciona Verano col., (S/f) o Selk, (2002), por factores de manejo del semen. Lo mencionado anteriormente pudo ser confirmado en nuestro estudio por la alta variabilidad del vigor espermático post descongelación entre toros de las razas evaluadas.

El semen al ser congelado sufre una serie de procesos que pueden alterar su calidad como menciona Decuadro-Hansen, (2004), y lo reafirma Bó y col., (2008), que semen de excelente calidad al descongelado resulta en semen de baja o muy mala calidad.

**Gráfica 5. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el vigor espermático post descongelado el semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

La gráfica muestra que el toro de la raza Hereford (HP) perteneciente a la Fuente 2, mostró el mejor vigor espermático al descongelado, éste difirió significativamente ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Brown Swiss (BS).

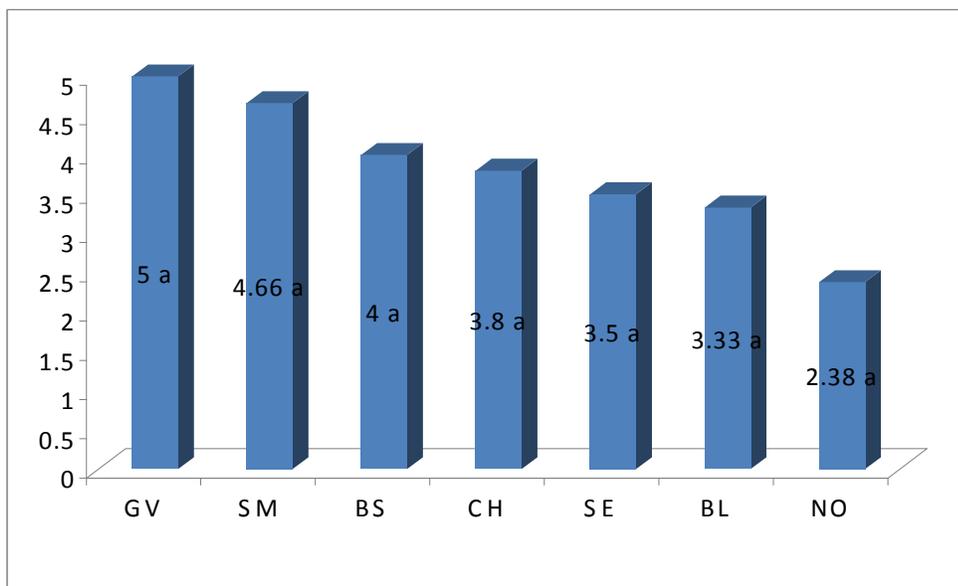
Los toros de las razas pertenecientes de la Fuente 2, cumplieron con las normas de calidad de semen bovino comercial, para el vigor espermático al descongelado, excepto los toros de las razas Brown Swiss (BS) y Senepol (SE) que no alcanzo un puntaje de tres como mínimo al descongelado como menciona Catena y col., 1999; Tríbulo y col., 2007.

En este caso se vio afectada o nula la viabilidad post descongelación en el semen del toro de la raza Brown Swiss (BS), tal como se muestra en la gráfica III para la motilidad espermática al descongelado y como se muestra en la gráfica V para el vigor espermático al descongelado, por factores de manejo como menciona Selk, (2002); de igual manera lo reafirma Catena y col., (1999), que semen de toros de alta calidad, la viabilidad espermática puede verse afectada en el mal manejo o almacenaje.

Factores como los mencionados por Decuadro-Hansen, (2004), que semen de alta calidad al congelado y luego descongelado resulta en semen de baja o muy

mala calidad y menciona Bó y col., (2008), que al ser congelado sufre una serie de procesos que puede afectarle. Por factores intrínsecos del semen como menciona Verano y col., (S/f). Además de acuerdo a Selk, (2002), por estos motivos descritos, no creemos que el toro de la raza Brown Swiss (BS), haya obtenido tan malos resultados. De ser así, sería responsabilidad directa de la fuente distribuidora en atreverse a comercializar un semen que no superara la crío preservación. Este es un factor de calidad que debe ser manejado exclusivamente por la fuente distribuidora para garantizar su viabilidad y entonces comercializarse.

**Gráfica 6. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el vigor espermático post descongelado el semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

La gráfica muestra que el toro de la raza Gelbvieh (GV) mostró el mayor vigor espermático al descongelado y no difirió significativamente ( $P > 0.05$ ) con ninguno de los toros de las demás razas en estudio, los cuales tampoco difieren significativamente ( $P > 0.05$ ) entre sí.

Los toros de las razas evaluadas, cumplieron con las normas de vigor espermático al descongelado del semen bovino comercial, excepto el toro de la raza Normando (NO) que no alcanzó el mínimo aceptable de tres puntos, (Catena y col., 1999; Tribulo y col., 2007).

Un mal manejo del tanque con nitrógeno como menciona Verano y col., (S/f), o una falta de cuidado en la distribución o almacenaje como dicta Catena y col., (1999), indican que se afecta seriamente la viabilidad espermática post descongelación, en este caso el toro de la raza Normando (NO), ya que no obtuvo el mínimo aceptable para el vigor espermático post descongelado por un mal manejo del tanque de nitrógeno.

Con el resto de los toros puede deberse la variabilidad en cuanto al vigor a factores intrínsecos del semen como menciona Verano y col., (S/f), y confirma Selk, (2002), Decuadro-Hansen, (2004); además de Bó y col., (2008).

**CUADRO IX. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS SOBRE LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN MANTENIDO EN BAÑO MARÍA A TREINTA Y SIETE GRADOS CENTÍGRADOS.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	3033.50	433.35	1.46	0.1942
<b>Fuente (raza)</b>	16	11128.40	695.52	2.35	0.0073
<b>Error</b>	73	21632.06	296.32		
<b>Total</b>	96	39187.34			

**CV: 38.06%**

Se obtuvo que la motilidad espermática a las dos horas post descongelación del semen mantenido en baño María a 37°C no tuvo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las fuentes evaluadas. La motilidad espermática a las dos horas post descongelación del semen mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados entre las fuentes anidadas en cada raza mostró que el efecto en consideración es altamente significativo ( $P < 0.01$ ), resultados obtenidos con un coeficiente de variación del 38.06 por ciento.

Después de dos horas de incubación, los valores para la motilidad espermática post descongelado el semen, pueden haber disminuido en un 10 a 15 por ciento en motilidad, (Catena y col., 1999).

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas de las fuentes distribuidoras, para la motilidad espermática a las dos horas post descongelación del semen mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados se encontró que la Fuente 1 con una media de 55.00 por ciento fue la mayor y no se observó diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con todas las demás fuentes evaluadas, las cuales entre sí tampoco difieren ( $P > 0.05$ ).

**CUADRO X. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS SOBRE LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN MANTENIDO EN BAÑO MARÍA A TREINTA Y SIETE GRADOS CENTÍGRADOS.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados del motilidad espermática a las dos horas post descongelación (%).</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
1	55.00	a
8	50.00	a
3	46.00	a
2	45.59	a
5	45.00	a
4	36.49	a
7	30.00	a
6	20.00	a

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

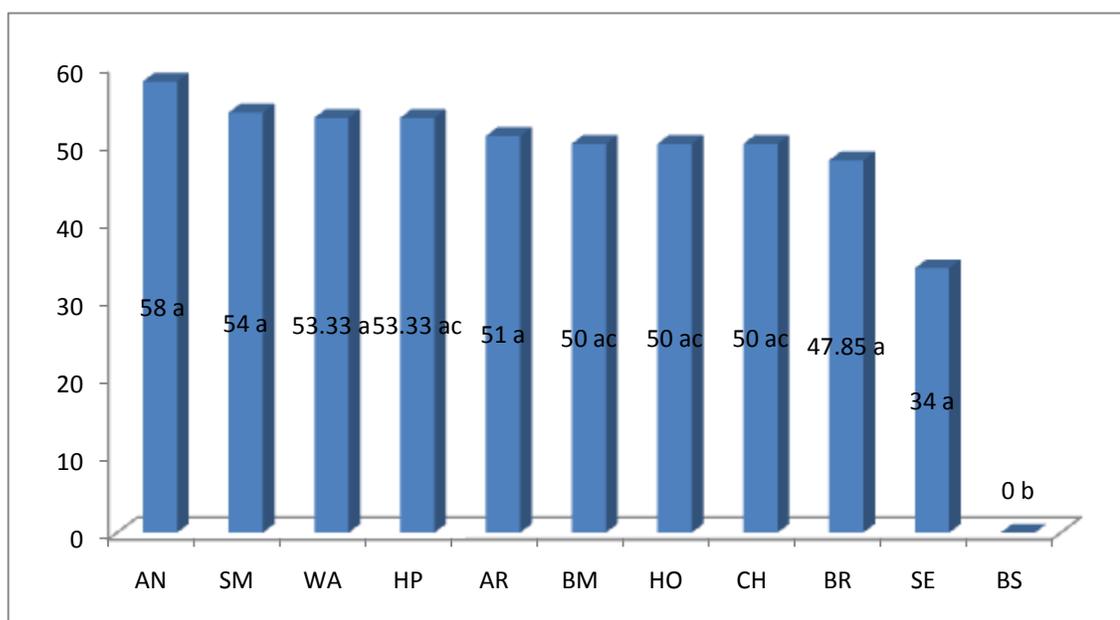
Las fuentes evaluadas cumplieron con las normas establecidas para la motilidad espermática a las dos horas post descongelación del semen en evaluación, con un mínimo de 10 a 15 por ciento en motilidad espermática como menciona Catena y col., (1999), y que corresponden con las normas ISO 9002.

La variabilidad de viabilidad post descongelación pasada dos horas en prueba de termo resistencia para la motilidad espermática pudo deberse a factores meramente intrínsecos del semen como menciona Verano y col., (S/f) y Selk (2002). Factores hereditarios aunque difíciles de precisar como menciona Decuadro-Hansen, (2004), que según análisis estadísticos sobre herencia y fertilidad, demuestra que existen diferencias raciales para estos valores.

Encontramos en nuestra evaluación que es cierto que existe semen de toros que aunque pertenezcan a la misma familia o entre razas puede uno a diferencia del otro, ser más resistente en el tiempo y mantener porcentajes de motilidad y vigor elevado. Aunque al final buscamos ese 15 por ciento de motilidad pasada dos horas en prueba de termo resistencia o baño María como mínimo. El semen en el tracto femenino debe ser capaz de resistir entre 18 y 20 horas para realizar la fecundación y los toros de las razas evaluadas cumplieron con esa norma establecida.

No creemos que los valores obtenidos (por su variabilidad) sean producto de un mal manejo como menciona Selk, (2002). Por una exposición a temperaturas superiores a los -50 grados centígrados (falta de nitrógeno, sacar la pajueta exponerla a elevadas temperaturas y volver a introducirla). Una exposición de temperatura es fatal para el total de la pajueta, esta exposición no causa daños a medias o a bajos porcentajes en la misma.

**Gráfica 7. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad espermática a las dos horas post descongelación del semen bovino en evaluación..**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

La gráfica muestra que el toro de la raza Angus Negro (AN) perteneciente a la Fuente 2, fue la mayor en cuanto a la motilidad espermática a las dos horas post descongelado el semen bovino, mantenida en baño María a treinta y siete grados centígrados, mostrando diferencias altamente significativa ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Brown Swiss (BS), éste no cumplió con los parámetros o estándares de calidad al descongelado del semen bovino comercial y difirió significativamente ( $P < 0.01$ ) con todos los demás toros de las razas evaluadas.

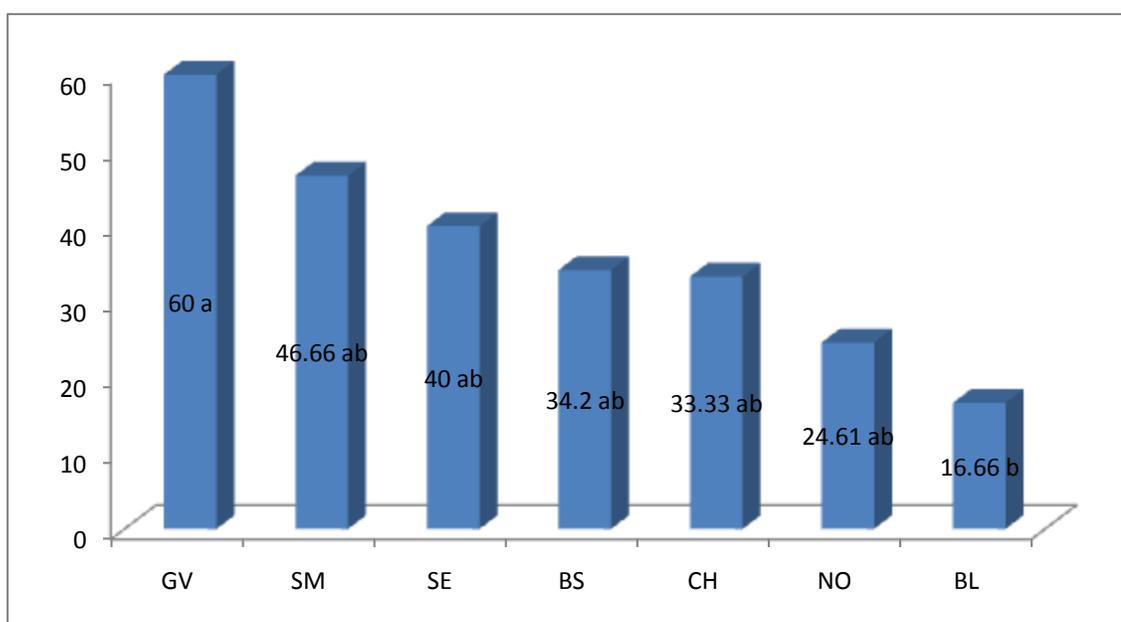
Los demás toros de las razas dentro de la Fuente 2, si cumplieron con los parámetros o estándares establecidos para la motilidad espermática a las dos horas post descongelado el semen comercial bovino del 15 por ciento como mínimo pasada la prueba de termo resistencia a treinta y siete grados centígrados como menciona Catena y col., (1999), y que corresponden con las normas ISO 9002.

El toro de la raza Brown Swiss (BS) obtuvo malos resultados desde un inicio, nula motilidad y vigor espermático al descongelado (gráficas III, V), los valores sobre viabilidad espermática una vez perdidos no son recuperables. Esto se debió más que todo a factores de manejo o mal almacenaje, se expuso la pajuela a temperaturas críticas y volvió a introducirse tal como menciona Selk, (2002), o por un descuido en el nivel de nitrógeno como recalca Verano y col., (S/f).

Por el contrario, si el semen del toro Brown Swiss (BS) al descongelado hubiese mostrado aceptable motilidad o vigor al descongelado, y muestra valores nulos como los expuestos en la gráfica VII, nos llevaría a pensar que por factores intrínsecos del semen como menciona Verano y col., (S/f), no mantuvo los valores aceptables pasada dos horas en prueba de termo resistencia o por un error en laboratorio (cristalería contaminada, etc.).

La variabilidad entre los otros toros de las razas evaluadas pudo deberse a factores intrínsecos del semen tal como menciona Selk, (2002), y confirma Verano y col., (S/f), y queda claro en nuestra evaluación que por factores intrínsecos propios del semen, existen variaciones en su viabilidad espermática, en este caso para la motilidad pasada dos horas y mantenido en prueba de termo resistencia.

**Gráfica 8. Comparación de medias mínimas porcentuales cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la motilidad espermática a las dos horas post descongelado, del semen bovino comercial en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Gelbvieh (GV) perteneciente a la Fuente 4, fue la que mayor motilidad a las dos horas post descongelación del semen bovino mostró, teniendo diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Blonde D`Aquitaine (BL).

Los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 4, cumplieron con la norma o estándares de calidad, para el semen bovino al descongelado, 15 por ciento pasada dos horas mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados, (Catena y col., 1999; Tribulo y col., 2007).

La variabilidad entre las motilidades espermáticas después dos horas en prueba de termo resistencia o baño María a treinta y siete grados centígrados, se debió a lo mencionado por Verano y col., (S/f), a factores intrínsecos del semen, de igual menciona Selk, (2002), que el semen posee valores propios a los cuales llaman intrínsecos, lo confirma también Catena y col., (1999), que semen de excelente calidad al congelado y descongelado resulta en semen de baja o muy mala calidad.

Este puede ser el caso del toro Blonde D'Aquitaine (BL) que mostró buena motilidad al descongelado (gráfica IV) y como se muestra en la gráfica VIII para este toro se ve una disminución en la motilidad muy significativa, sin embargo cumplió con el mínimo establecido de 15 por ciento pasada dos horas en prueba de termo resistencia o baño María a treinta y siete grados centígrados.

**CUADRO XI. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DEL VIGOR ESPERMÁTICO A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN MANTENIDO EN BAÑO MARÍA A TREINTA Y SIETE GRADOS CENTÍGRADOS.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	20.03	2.86	2.53	0.0218
<b>Fuente (raza)</b>	16	45.96	2.87	2.54	0.0037
<b>Error</b>	73	82.55	1.13		
<b>Total</b>	96	148.55			

**CV: 38.77%**

Para el vigor espermático a las dos horas post descongelación mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados al evaluar las fuentes arrojó que el efecto en consideración es significativo ( $P < 0.05$  pero  $P > 0.01$ ). Entre las fuentes anidadas en cada raza el vigor espermático a las dos horas post descongelación mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados demostró que el efecto en evaluación es altamente significativo ( $P < 0.01$ ), con un coeficiente de variación de 38.77 por ciento para nuestro estudio.

Después de dos horas del descongelado y mantenido el semen en incubación, los valores para el vigor espermático pueden haber disminuido un punto en vigor, (Catena y col., 1999).

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas para el vigor espermático a las dos horas post descongelación mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados muestra que la Fuente 8 con una media de 3.50 fue la mayor y mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con la Fuente 6 en evaluación, y estas entre sí no difieren significativamente ( $P < 0.01$ ) solo con la Fuente 6 que existe diferencia significativa ( $P > 0.05$ ).

**CUADRO XII. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL VIGOR ESPERMÁTICO DE LAS FUENTES DISTRIBUIDORAS, A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados del vigor espermático a las dos horas post descongelación.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
8	3.50	a
2	3.03	a
1	3.00	a
7	3.00	a
3	2.80	a
4	2.50	ab
5	2.50	ab
6	2.00	b

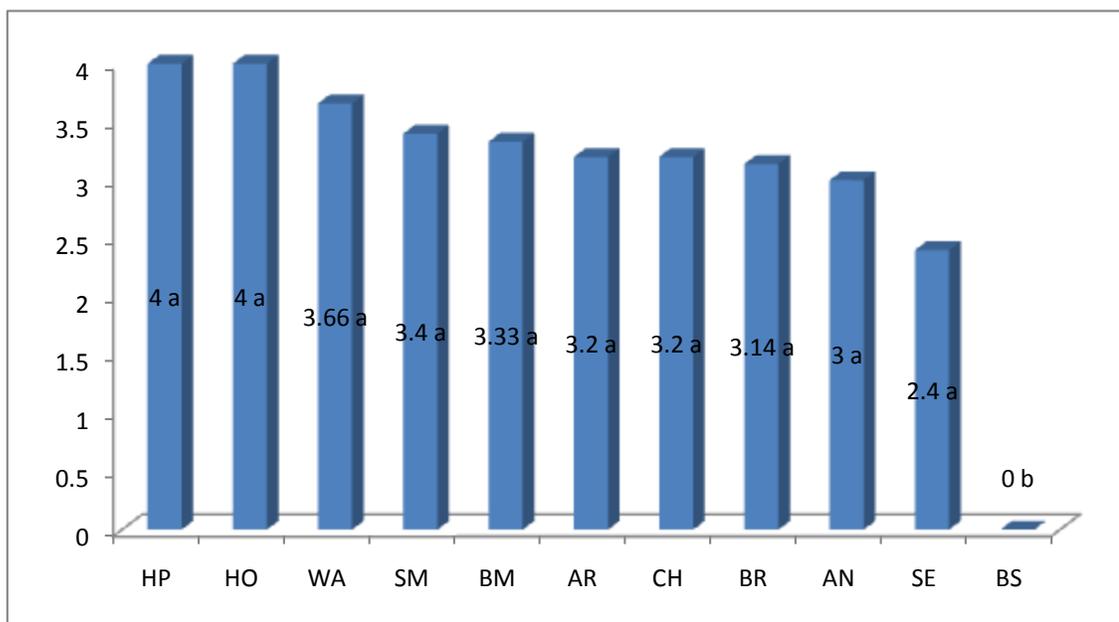
Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Las fuentes evaluadas cumplieron con las normas mínimas establecidas para el vigor espermático a las dos horas post descongelación del semen bovino comercial en evaluación con un mínimo de dos puntos, (Barth, 1994; Catena y col., 1999).

Las características post descongelación pudieron verse seriamente afectadas como menciona Catena y col., (1999), por un mal manejo del semen en su distribución o almacenaje. Aunado a esto, menciona Verano y col., (S/f), que factores intrínsecos del semen pueden ser la causa que una vez descongelada la pajueta, semen de excelente o buena calidad por efectos del congelado-descongelado pasen a ser de baja o mala calidad como menciona Bó y col., (2008). Esto dio en nuestra evaluación una alta variabilidad entre las fuentes distribuidoras.

Como menciona Selk, (2002), un mal manejo o exposición a altas temperaturas fuera de los rangos aceptables causa daño total y no parcial sobre las células espermáticas, por ello descartamos que un mal manejo haya sido la causa de esta variación en cuanto al vigor espermático pasada dos horas en prueba de termo resistencia entre las fuentes evaluadas.

**Gráfica 9. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el vigor espermático dos horas post descongelado el semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

La gráfica muestra que el toro de la raza Hereford (HP), fue el mayor en cuanto al vigor espermático a las dos horas post descongelado el semen bovino en evaluación, este mostró diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Brown Swiss (BS).

Los toros de las razas evaluadas pertenecientes a la Fuente 2, cumplieron con las normas o estándares de calidad para el vigor espermático pasada la prueba

de termo resistencia, del semen bovino en evaluación, excepto el toro de la raza Brown Swiss (BS) que no cumplió con el mínimo establecido de dos puntos, (Barth, 1994; Catena y col., 1999).

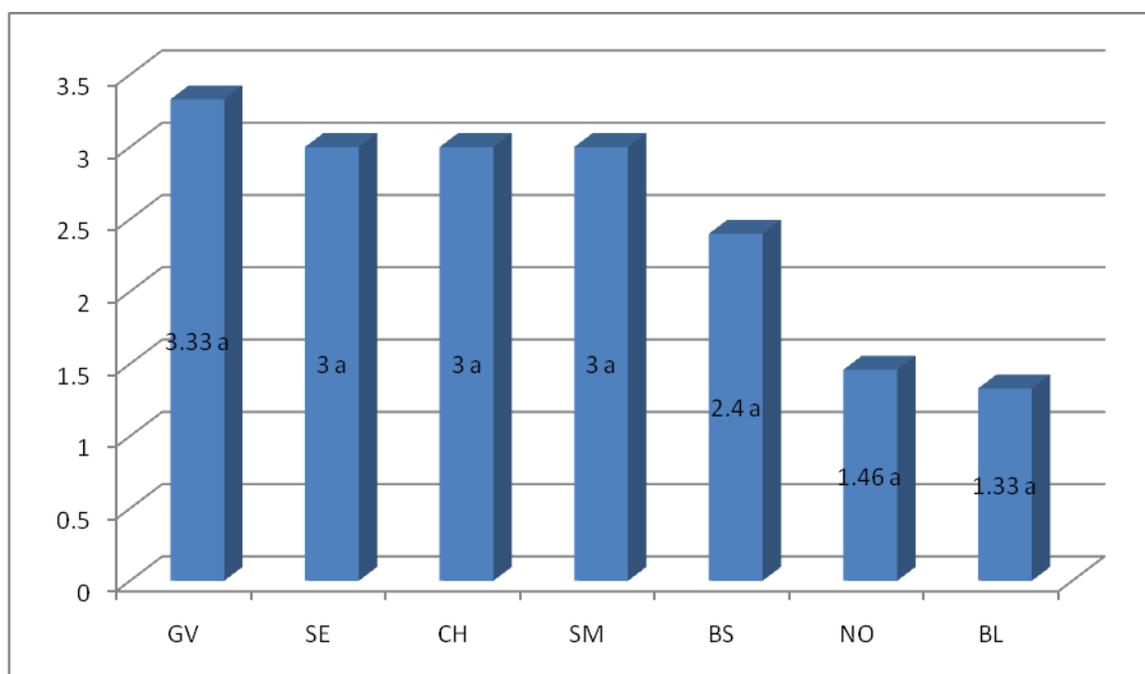
El toro de la raza Brown Swiss (BS) no aprobó el parámetro de vigor espermático a las dos horas post descongelación y mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados, debido a un factor de manejo como menciona Catena y col., (1999), en su distribución o almacenaje donde no se llevaron los cuidados adecuados.

La alta variabilidad de los toros pertenecientes a la Fuente 2 se debió a lo mencionado por Verano y col., (S/f), a factores intrínsecos, desconocidos y no evaluados en nuestro estudio, del semen. También a lo mencionado por Bó y col., (2008), que semen de toros que antes del congelado son catalogados como excelentes o buenos y una vez pasan por el proceso de crío preservación y descongelado pasan a ser semen de baja o mala calidad.

En nuestros resultados, la alta variabilidad en cuanto al vigor espermático pasada dos horas en prueba de termo resistencia para los toros de las razas evaluadas, por ejemplo el toro de la raza Hereford (HP) al descongelado mostró excelente vigor (gráfica V) y pasada dos horas mantuvo valores altos, lo cual indicó que posee factores intrínsecos en él, lo que le permite mantener mayor calidad al paso del tiempo. Este es un semen que sin dudas resistiría en el tracto

femenino un prolongado periodo, dando alta tasa de fertilidad y siendo muy bueno para ser usado en un programa de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo como para la fertilización de una donadora de embriones.

**Gráfica 10. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el vigor espermático dos horas post descongelado el semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Gelbiev (GV) perteneciente a la Fuente 4, fue el que mayor vigor espermático a las dos horas post descongelado el semen bovino en evaluación mostró, no difirió significativamente ( $P > 0.05$ ) con ninguno de los

demás toros en estudio, los cuales tampoco difieren significativamente ( $P > 0.05$ ) entre sí.

Los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 4, cumplieron con la norma mínima para el vigor espermático a las 2 horas mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados, excepto los toros de las razas Normando (NO) y Blonde D'Aquitaine que no alcanzaron el puntaje mínimo de dos para el vigor espermático a las dos horas post descongelado según menciona Catena y col., 1999; Tríbulo y col., 2007, y que corresponden con las normas ISO 9002.

Esto puede ser el resultado de lo mencionado por Bó y col., (2008), donde semen de buena calidad al descongelado pasa ser de mala o baja calidad. Por lo mencionado por Verano y col., (S/f), por factores intrínsecos del semen. A mi consideración y basándome en mis resultados esta es la razón o la situación en la que se encuentra el toro de la raza Blonde D'Aquitaine (BL) perteneciente a la Fuente 4. Este mostró aceptable motilidad al descongelado (gráfica IV) y aceptable vigor al descongelado (VI) pero como se muestra en la gráfica X, mostró bajo puntaje en vigor pasada dos horas en prueba de termo resistencia o baño María a treinta y siete grados centígrados.

Contrario al toro de la raza Normando (NO), que por un mal manejo del tanque se afectó la viabilidad espermática pasada dos horas en prueba de termo resistencia o baño María a treinta y siete grados centígrados. Este toro fue el que contó con mayor cantidad de pajuelas evaluadas (cinco), puesto que las tres primeras salieron

insatisfactorias y provenían de otro tanque. La cuarta y quinta pajuela proveniente del tanque designado para la evaluación donde se tenía excelente control de manejo y mantenimiento de nitrógeno, obtuvieron valores de viabilidad post descongelación muy buenos y aceptables.

**CUADRO XIII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE MOTILIDAD PROGRESIVA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	3.31	4.73	7.65	< 0.0001
<b>Fuente (raza)</b>	16	3.62	2.26	3.67	< 0.0001
<b>Error</b>	71	4.39	6.18		
<b>Total</b>	94	1.18			

**CV: 41.05%**

Se encontraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre las fuentes estudiadas para la motilidad progresiva a la cero hora post descongelación. De igual manera existen diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre las fuentes anidadas de cada raza evaluada. Ambos datos manejados con un coeficiente de variación del 41.05 por ciento.

Los parámetros para la motilidad espermática progresiva al descongelado dictan que la dosis inseminante debe tener como mínimo ocho a seis millones de espermatozoides

tanto en pajuelas de 0.25 ml como en las de 0.50 ml, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004).

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas de las fuentes distribuidoras, para la motilidad progresiva a la cero hora post descongelación, indica que la Fuente 3 con una media de 41, 710,000.0 fue la mayor y difirió significativamente ( $P < 0.01$ ) con todas las demás fuentes, las cuales entre sí no difieren ( $P > 0.05$ ) estadísticamente.

**CUADRO XIV. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES CON MOTILIDAD PROGRESIVA A LA CERO HORA POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados del número de espermatozoides con motilidad progresiva al descongelado.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
3	41710000.0	a
5	20175000.0	b
2	17933171.0	b
4	15954020.1	b
1	12062500.0	b
8	11625000.0	b
7	11150000.0	b
6	8812500.0	b

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

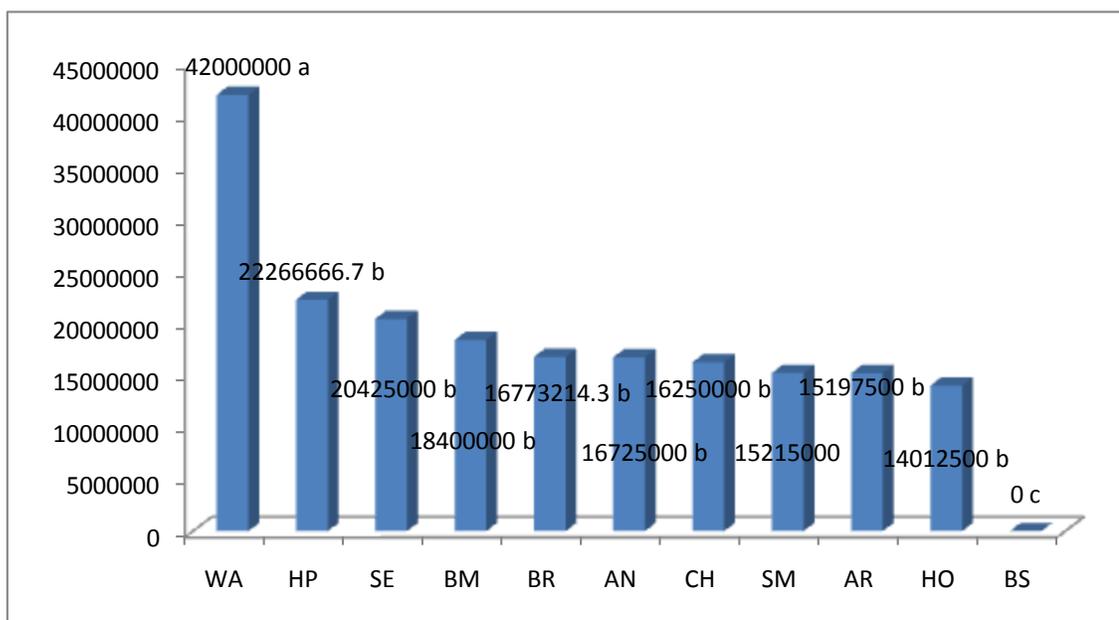
Las fuentes distribuidoras de semen congelado bovino evaluado, cumplieron con los parámetros dictados para el número de espermatozoides con motilidad progresiva a la cero hora post descongelado, con un mínimo de ocho millones de espermatozoides con motilidad progresiva a la cero hora post descongelado, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004).

Según menciona Decuadro-Hansen, (2004), al realizar diferentes evaluaciones utilizando la Tasa de No Retorno de vacas en celo (TNR) para determinar si existían diferencias entre usar 15 millones de espermatozoides con motilidad progresiva y no verse afectada la TNR, y se encontró que hasta con seis millones la TRN solo se vio disminuida en un uno por ciento, no mostrando diferencia significativa con 15 millones de espermatozoides con motilidad progresiva al descongelado.

Catena y col., (1999), recomiendan un número de ocho millones de espermatozoides con motilidad progresiva al descongelado y que corresponden con las normas ISO 9002. Este número puede verse reducido hasta seis millones solo si el semen posee un porcentaje mínimo de espermatozoides anormales y si la motilidad progresiva es de 40% y un vigor de cuatro al descongelado.

Las fuentes en evaluación mostraron variabilidad entre ellas pues todas mostraron una considerable cantidad de espermatozoides con patologías espermáticas totales. Además de variabilidad en cuanto a la motilidad progresiva y el vigor espermático al descongelado y se ajustaron a los ocho millones como mínimo.

**Gráfica 11. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad progresiva a la cero hora post descongelado, del semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Wayuu (WA) mostró diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ) con todos los demás toros de las razas evaluadas, las cuales entre sí, no

difieren significativamente ( $P > 0.05$ ) excepto con el toro de la raza Brown Swiss (BS) que difiere significativamente ( $P < 0.01$ ) con todos los toros de las razas en evaluación.

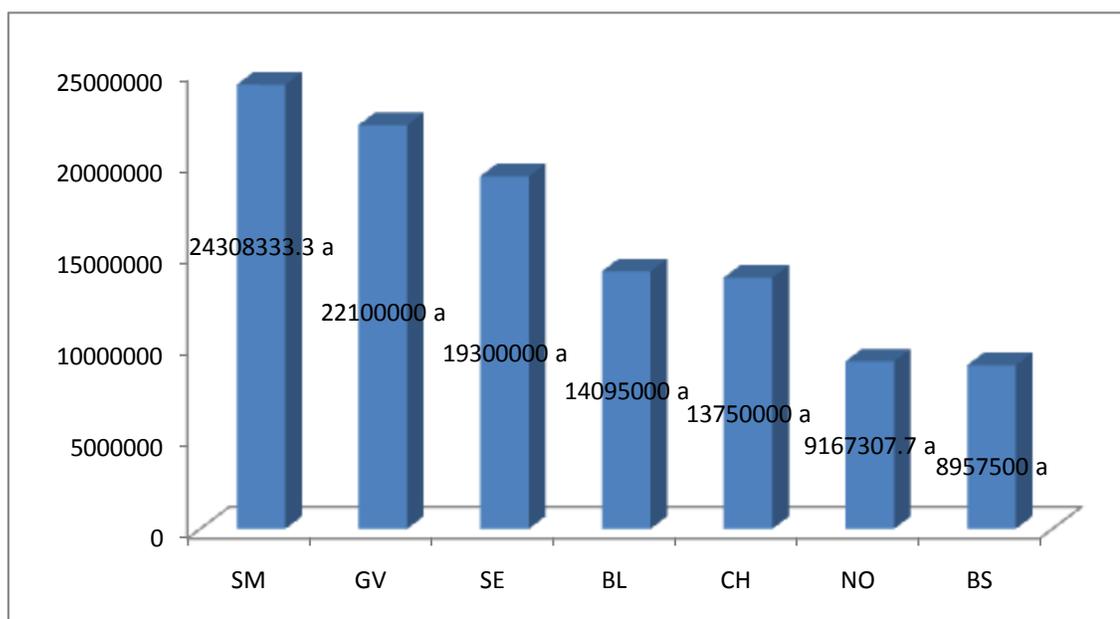
Las normas ISO 9002, establecen que la dosis inseminante debe tener un mínimo de ocho millones de espermatozoides con motilidad progresiva. Este número puede verse reducido a seis millones si el semen posee más de 40 por ciento de espermatozoides con motilidad progresiva y si la tasa de anomalías es inferior al 15 por ciento, o si el porcentaje de no retorno 60/90 de 300 primo inseminaciones resulta equivalente al obtenido con ocho millones, (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004; Barth y col., 2007).

Los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 2, alcanzaron los valores de motilidad progresiva recomendados o establecidos a la cero hora post descongelación del semen bovino comercial, excepto el toro de la raza Brown Swiss (BS).

En el caso del toro Brown Swiss (BS), un mal manejo en el tanque como menciona Verano y col., (S/f), falta de nitrógeno. También menciona Selk, (2002), exposición a altas temperaturas pueden causar daño total y permanente a las células espermáticas, lo cual queda evidenciado en nuestra evaluación.

Interesante el caso del Wagyu (WA), semen de nueva y difícil introducción a nuestro país, mostró en nuestra evaluación excelente motilidad progresiva al descongelado (gráfica III) y vigor al descongelado (gráfica V), pero elevada cantidad de espermatozoides con anomalías o patologías espermáticas secundarias (gráfica XXI). La fuente distribuidora busco con elevar la concentración (gráfica I), tal como menciona Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), compensar dichas anomalías espermáticas para no verse comprometida la fertilidad del semen y comercializar su producto.

**Gráfica 12. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el número de espermatozoides con motilidad progresiva a la cero hora post descongelado el semen bovino comercial en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

La gráfica muestra que para la motilidad progresiva a la cero hora post descongelado el semen, el toro de la raza Simmental (SM), fue la mayor y no mostró diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) con ninguno de los toros de las razas evaluadas dentro de la fuente 4, y estas no difirieron estadísticamente ( $P > 0.05$ ) entre sí.

Los toros de las razas estudiadas, dentro de la Fuente 4, se mantuvieron dentro de los parámetros aceptables para la motilidad progresiva, ocho millones de espermatozoides por dosis inseminante en pajuelas de 0.25 ml y 0.50 ml., (Catena y col., 1999; Decuadro-Hansen, 2004; Barth y col., 2007; Tríbulo y col., 2007).

La variabilidad entre los toros de las razas evaluadas para el número de espermatozoides con motilidad progresiva al descongelado se debió a que existió variabilidad en cuanto a la motilidad (gráfica IV) al descongelado de la pajuela. Además de elevada cantidad de espermatozoides con patologías espermáticas secundarias (gráfica XXII) lo cual no les permitió bajar la concentración para que al final ajustara a los necesarios 8 millones y comercializar mayor número de pajuelas por toro.

**CUADRO XV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DEL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES CON MOTILIDAD PROGRESIVA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	1.52	2.17	5.42	< 0.0001
<b>Fuente (raza)</b>	16	1.87	1.17	2.92	0.0010
<b>Error</b>	71	2.85	4.01		
<b>Total</b>	94	6.57			

**CV: 40.38%**

Como resultado del análisis tenemos que existen diferencias altamente significativa ( $P < 0.01$ ) entre las fuentes evaluadas para el número de espermatozoides con motilidad progresiva a las dos horas post descongelación. Al igual que diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre las fuentes anidadas de cada raza, evaluación realizada con un coeficiente de variación del 40.38 por ciento.

En cuanto al número de espermatozoides con motilidad progresiva a las dos horas post descongelación, no se encuentra ningún tipo de criterio, norma o literatura para la evaluación de semen bovino congelado, en nuestra evaluación se realizaron los cálculos del mismo solo para determinar qué cantidad de espermatozoides estaban aptos, o que semen tenía mejor probabilidad de que una vez demorada la inseminación no se afectara la fertilidad del mismo.

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas de las fuentes distribuidoras, para el número de espermatozoides con motilidad progresiva a las dos horas post descongelación demostró que la Fuente 3 con una media de 28,495,000.0 fue la mayor y difirió significativamente ( $P < 0.01$ ) con todas las fuentes, y las demás fuentes difieren significativamente ( $P < 0.01$ ) entre sí.

**CUADRO XVI. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDEOS CON MOTILIDAD PROGRESIVA A LAS DOS HORAS POST DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO COMERCIAL DE LAS FUENTES EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

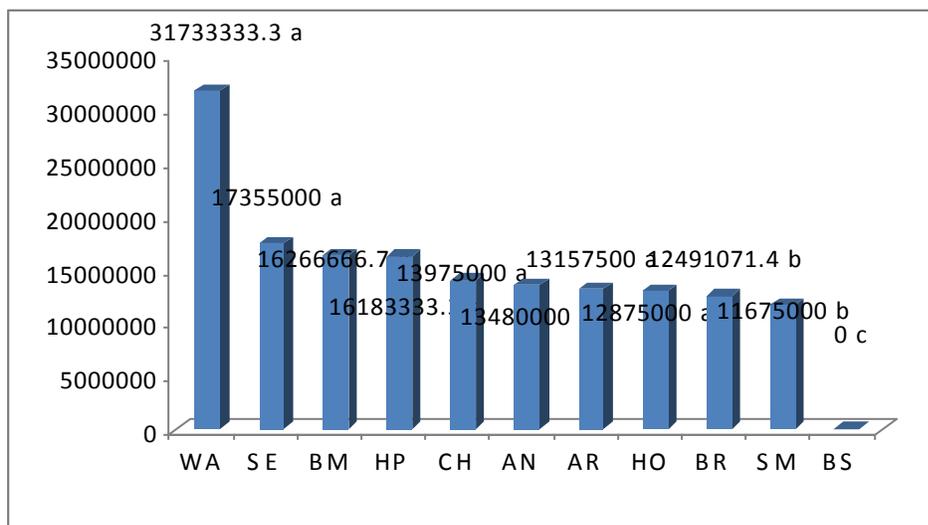
<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados del número de espermatozoides con motilidad progresiva a las dos horas post descongelación.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
3	28495000.0	a
5	15012500.0	b
2	14471991.3	b
4	10772245.4	b
1	10200000.0	b
8	8937500.0	bc
7	7600000.0	c
6	7050000.0	c

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

No existe norma o criterio mínimo recomendado para el número de espermatozoides con motilidad progresiva pasada dos horas en prueba de termo resistencia o baño María a treinta y siete grados centígrados. Para esto se realizaron los cálculos correspondientes solo para saber la cantidad de espermatozoides con que se cuenta, si se retrasa la inseminación artificial. Aunque Barth y col., (2007), menciona que una vez descongelada la pajuela, no debe demorarse más de 15 minutos con la pajuela montada en la pistola de inseminación, pues se ve reducida la motilidad y el vigor de los espermatozoides.

La variabilidad entre las fuentes se debió más que todo a factores intrínsecos del semen como menciona Selk, (2002), diferencias a través del tiempo se vieron marcadas en nuestra evaluación para la motilidad (cuadro VIII), además de las diferencias en la concentración (cuadro IV) factores que van correlacionadas las una con otra.

**Gráfica 13. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para la motilidad progresiva a las dos horas post descongelado, del semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

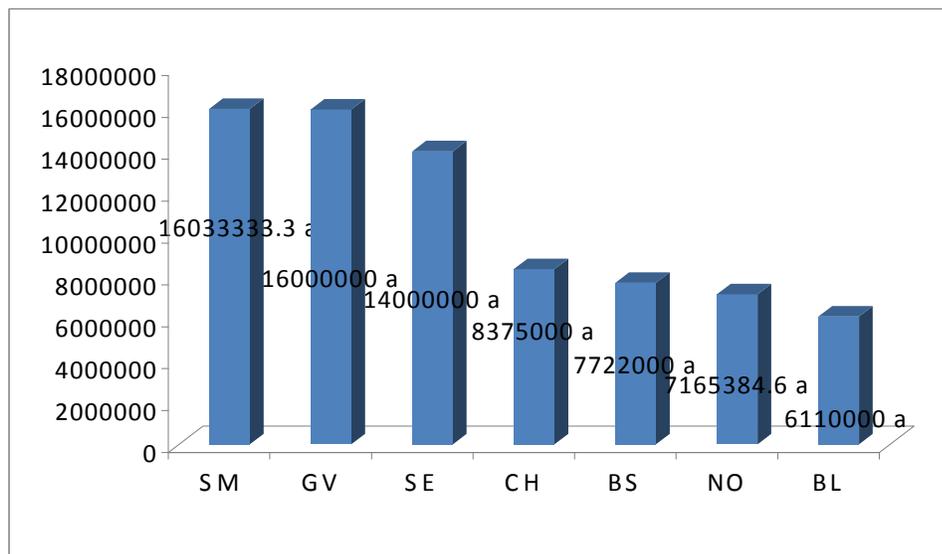
El toro de la raza Wayuu (WA) perteneciente a la Fuente 2, fue el que mostró mayor número de espermatozoides con motilidad progresiva a las dos horas post descongelado el semen, mantenido en baño María a treinta y siete grados centígrados, arrojando tener diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Brown Swiss (BS).

Los toros de las razas evaluadas mostraron un elevado número de espermatozoides con motilidad progresiva pasada dos horas luego de la descongelación, excepto el toro de la raza Brown Swiss (BS).

La nula cantidad de espermatozoides con motilidad progresiva pasada dos horas para el toro de la raza Brown Swiss (BS) se debió a un mal manejo del termo como menciona Verano y col., (S/f). Exposición a elevadas temperaturas del semen como destaca Selk, (2002), y devuelto al termo causando un golpe térmico fatal e irreparable.

Cabe señalar que las pajuelas de semen congelado del toro de la raza Wayuu (WA) de la Fuente 2, mostró mayor cantidad o concentración espermática por dosis (gráfica I). Para compensar según Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), las patologías espermáticas secundarias presentes en las muestras (gráfica XXII). Mostró una buena motilidad al descongelado (gráfica III) y pasada dos horas en prueba de termo resistencia (gráfica VII), lo cual al realizar el cálculo se mantuviera elevada la cantidad de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis inseminante aun pasada dos horas.

**Gráfica 14. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para la motilidad progresiva a las dos horas post descongelado el semen bovino comercial en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Simmental (SM) fue la mayor y no difirió significativamente ( $P > 0.05$ ) con ninguno de los toros de las razas en evaluación, las cuales entre sí no difieren significativamente ( $P > 0.05$ ).

Los toros de las razas evaluadas mostraron un elevado nivel de motilidad progresiva pasada dos horas de la descongelación pues mostraron buenos valores de motilidad progresiva a las dos horas post descongelación. En cuanto al número de espermatozoides con motilidad progresiva a las dos horas post

descongelación del semen, no existen normas o un criterio mínimo para el semen congelado bovino, sin embargo se efectuó el cálculo para conocer, que cantidad de espermatozoides están aptos pasada dos horas del descongelado el semen y no realizada la inseminación artificial en el momento establecido.

**CUADRO XVII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ESPERMATOZOIDES VIVOS AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO COMERCIAL EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	2737.59	391.08	0.91	0.50
<b>Fuente (raza)</b>	16	26725.47	1670.34	3.91	< 0.0001
<b>Error</b>	73	3120.47	427.44		
<b>Total</b>	96	64693.67			

**CV: 30.21%**

Como resultado tenemos que no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ) entre las fuentes, para el número de espermatozoides vivos al momento de la descongelación del semen. Sin embargo el estudio entre las fuentes anidadas en cada raza mostró que el efecto en consideración es altamente significativo ( $P < 0.01$ ). Estudio realizado con un coeficiente de variación de 30.21 por ciento.

Las normas o estándares de calidad aceptados para el semen bovino comercial congelado en evaluación son del 70 por ciento de células viables o células aptas para alcanzar el ovulo, (Catena y col., 1999; Barth y col., 2007).

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas de las fuentes distribuidoras, para los espermatozoides vivos al momento de la descongelación del semen encontramos que la Fuente 3 con una media de 74.00 fue la mayor y no tuvo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con ninguna de las fuentes evaluadas, estas entre sí tampoco difieren significativamente ( $P > 0.05$ ).

**CUADRO XVIII. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDEOS VIVOS AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados de espermatozoides vivos al momento de la descongelación del semen.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
3	74.00	a
5	73.00	a
2	71.41	a
8	71.00	a
4	69.10	a
7	68.50	a
1	67.00	a
6	34.50	a

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

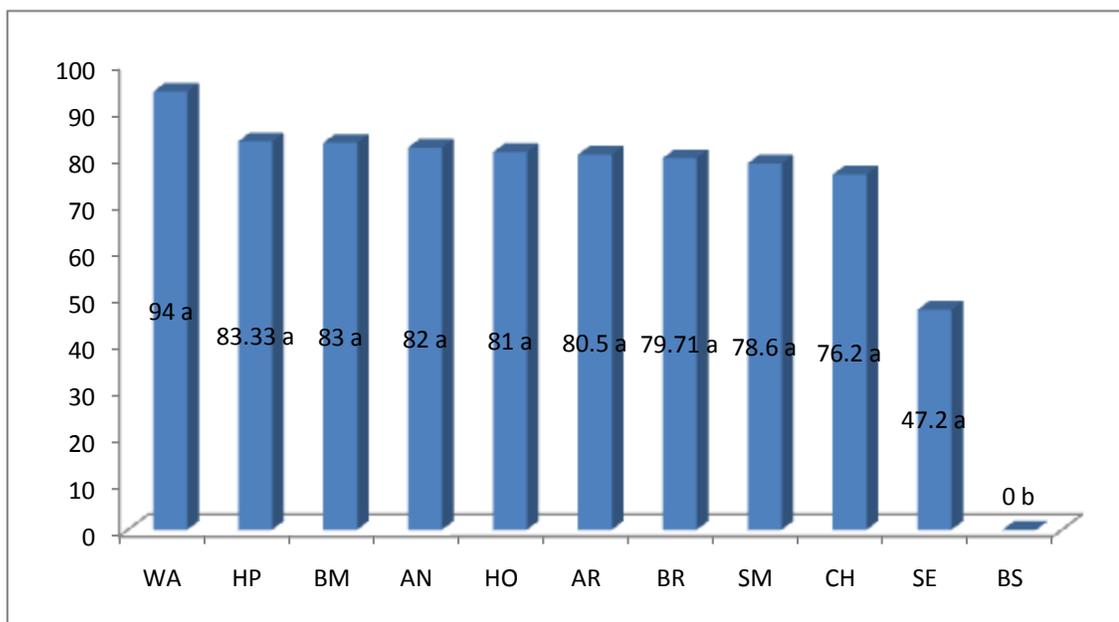
De las fuentes evaluadas para el número de espermatozoides vivos al descongelado todas mostraron una buena cantidad de células espermáticas viables arriba del 70 por ciento, excepto la Fuente 6 que mostró niveles bajos de espermatozoides vivos al momento del descongelado del semen bovino comercial, (Catena y col., 1999; Barth y col., 2007).

El número de espermatozoides vivos puede estar influenciado por un mal manejo del semen congelado según menciona Catena y col., (1999), y reafirman Verano y col., (S/f), además de Selk, (2002).

Sin embargo los resultados encontrados ponen de manifiesto lo descrito por Verano y col., (S/f), en que por factores intrínsecos propios del semen es que se encuentran variaciones para el número de espermatozoides vivos al momento del descongelado.

La tinción de eosina-nigrosina tiñe de rosado intenso a los espermatozoides muertos al descongelado Bloom, (1967) citado por Rodríguez, (1974), dato que está muy correlacionado con el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva al descongelado según Barth y col., (2007), y que fue confirmado en nuestra evaluación.

**Gráfica 15. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el número de espermatozoides vivos al descongelado del semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

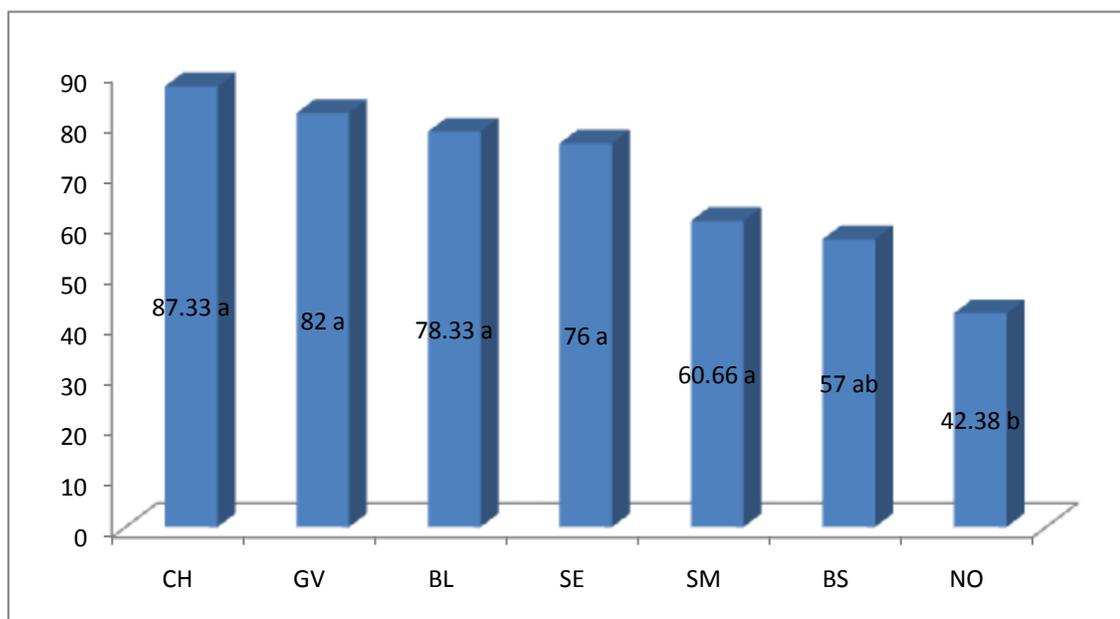
El toro de la raza Wayuu (WA) de la Fuente 2, fue el que mayor número de espermatozoides vivos mostró al descongelado el semen bovino en evaluación, difiriendo significativamente ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Brown Swiss (BS).

Los toros evaluados mostraron niveles aceptables y buenos de espermatozoides vivos al descongelado, no obstante los toros Senepol (SE) y Brown Swiss (BS)

mostraron bajos niveles o cantidades de espermatozoides vivos, 70 por ciento como mínimo de células viables, (Catena y col., 1999; Barth y col., 2007).

Un mal manejo fue la causa para que el semen del toro Brown Swiss (BS) no aprobara la evaluación como menciona Verano y col., (S/f), además de Selk, (2002). Se observó que está muy correlacionada la cantidad de espermatozoides vivos con la motilidad progresiva al descongelado como menciona Barth y col., (2007), alta motilidad elevado número de espermatozoides vivos, lo cual damos fe en nuestro estudio.

**Gráfica 16. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el número de espermatozoides vivos al descongelado del semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Charolais (CH) perteneciente a la Fuente 4 en evaluación, fue el que mayor cantidad de espermatozoides vivos mostró, difiriendo significativamente ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Normando (NO).

Los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, mostraron buena y aceptable cantidad o número de espermatozoides vivos al descongelado del semen bovino en evaluación, excepto los toros Normando (NO), Simmental (SM) y Brown Swiss (BS) que están por debajo de los 70 por ciento de espermatozoides normales o aptos para fertilizar el ovulo, (Catena y col., 1999; Barth y col., 2007).

La causa de esta carencia de espermatozoides aptos o vivos para el toro de la raza Simmental (SM) se atribuye factores intrínsecos del semen como menciona Selk, (2002), o por lo que encuentro Bó y col., (2008), en sus investigaciones que toros de alta calidad al congelado-descongelado resulta en semen de baja o muy mala calidad. De igual forma lo reporto Mela, (2006), que el tiempo de refrigeración sobre el semen diluido juega un papel importante en la calidad espermática post descongelación principalmente para el número de espermatozoides vivos.

El tiempo de congelación y descongelación, reportado por Barth, (1994), menciona que atravesar de manera rápida las temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $-50^{\circ}\text{C}$  le son menos perjudiciales a la integridad de los elementos celulares y encontrar entonces mayor cantidad de espermatozoides vivos o aptos para fecundar.

Pero el caso del toro Brown Swiss (BS) y Normando (NO) recalcamos son por factores de mal manejo del semen congelado, mencionado por Verano y col., (S/f) y reafirmado por Selk, (2002). Debido a exposición a altas temperaturas lo que ocasiona daño irreversible sobre la viabilidad post descongelación o falta de nitrógeno en el tanque.

**CUADRO XIX. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ESPERMATOZOIDEOS MUERTOS AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	2734.30	390.61	0.92	0.49
<b>Fuente (raza)</b>	16	26382.11	1648.88	3.98	< 0.0001
<b>Error</b>	73	30968.08	424.22		
<b>Total</b>	96	63944.18			

**CV: 65.43%**

El cuadro anterior muestra los resultados del análisis arrojando que no existió diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre las fuentes evaluadas para la cantidad de

espermatozoides muertos al momento de la descongelación del semen. El análisis entre las fuentes anidadas en cada raza mostro que el efecto en consideración es altamente significativo ( $P < 0.01$ ), con un coeficiente de variación de 65.43 por ciento para el estudio.

Las normas o estándares de calidad aceptados para el semen bovino comercial congelado en evaluación son del 70 por ciento de células viables o células aptas para alcanzar el ovulo, (Catena y col., 1999; Barth y col., 2007).

**CUADRO XX. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ESPERMATOZOIDEOS MUERTOS (TRANSFORMADOS LOGARÍTMICAMENTE) AL MOMENTO DE LA DESCONGELACIÓN DEL SEMEN BOVINO COMERCIAL EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	2.85	0.40	1.61	0.14
<b>Fuente (raza)</b>	16	18.44	1.15	4.56	< 0.0001
<b>Error</b>	73	18.46	0.25		
<b>Total</b>	96	42.33			

**CV: 15.67%**

Con los datos transformados logarítmicamente de espermatozoides muertos al momento de la descongelación del semen tenemos como resultados que no existió diferencia significativas ( $P > 0.05$ ) entre las fuentes. Sin embargo el análisis entre las

fuentes anidadas en cada raza arrojó que existen diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) para el número de espermatozoides muertos (transformados logarítmicamente) al momento de la descongelación del semen, con un coeficiente de variación muy bajo 15.67 por ciento, mostrando este buena precisión para el estudio.

Las normas o estándares de calidad aceptados para el semen bovino comercial congelado en evaluación son del 70 por ciento de células viables o células aptas para alcanzar el ovulo, (Catena y col., 1999; Barth y col., 2007).

Se transformaron los datos originales a logaritmo base 10 pues los datos no se ajustaron a una distribución normal y así homogenizar varianzas.

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas de las fuentes distribuidoras, para espermatozoides muertos (transformados logarítmicamente) al momento de la descongelación del semen muestra que la Fuente 6 con una media de 4.08 fue la mayor y no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con todas las otras fuentes en estudio, las cuales entre sí no difieren significativamente ( $P > 0.05$ ), según la prueba realizada.

**CUADRO XXI. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA EL NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES MUERTOS TRANSFORMADOS LOGARÍTMICAMENTE AL MOMENTO DEL DESCONGELADO EL SEMEN BOVINO COMERCIAL, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados del logaritmo de los espermatozoides muertos al momento del descongelado el semen.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
6	4.08	a
1	3.48	a
7	3.44	a
8	3.36	a
5	3.29	a
4	3.23	a
3	3.13	a
2	3.04	a

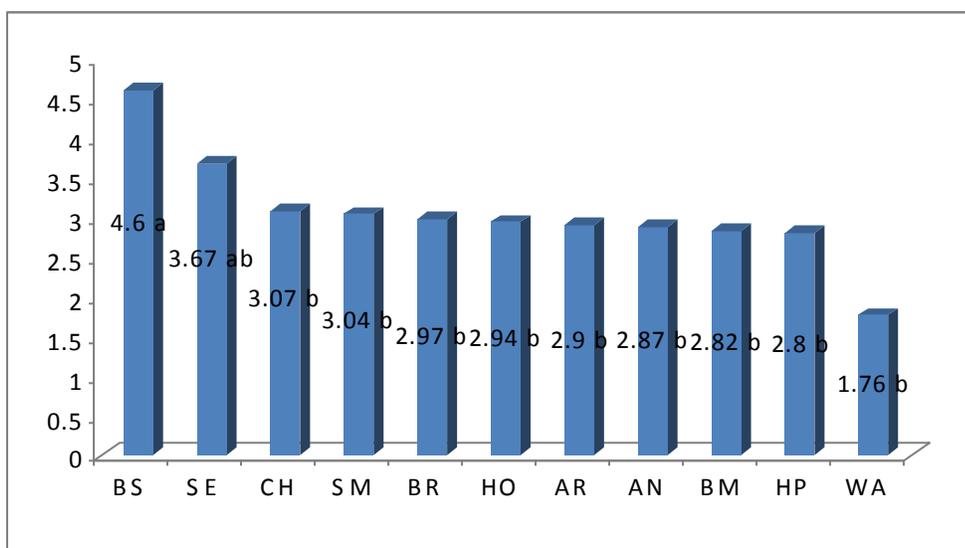
Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Las Fuentes 2 y 3, fueron las que mostraron menor cantidad de espermatozoides muertos al descongelado del semen bovino comercial con relación a la Fuente 6 que alcanzó niveles elevados en cantidad de espermatozoides muertos. Lo cual demostró no cumplir con los estándares de calidad aceptados para el semen bovino comercial

congelado en evaluación del 70% de células viables, (Catena y col., 1999; Barth y col., 2007).

Esta deficiencia o alto porcentaje de espermatozoides muertos se puede deber principalmente a un mal manejo del semen congelado como menciona Verano y col., (S/f), un descuido en el rellenado del tanque con nitrógeno. Quizás por lo mencionado por Selk, (2002), la pajuela fue expuesta a altas temperaturas por un tiempo lo cual afecta irreversiblemente la viabilidad del semen contenido en la pajuela reflejándose con un elevado número de espermatozoides teñidos conteniendo la eosina.

**Gráfica 17. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para el número de espermatozoides muertos (transformado logarítmicamente) al descongelado del semen bovino en evaluación.**

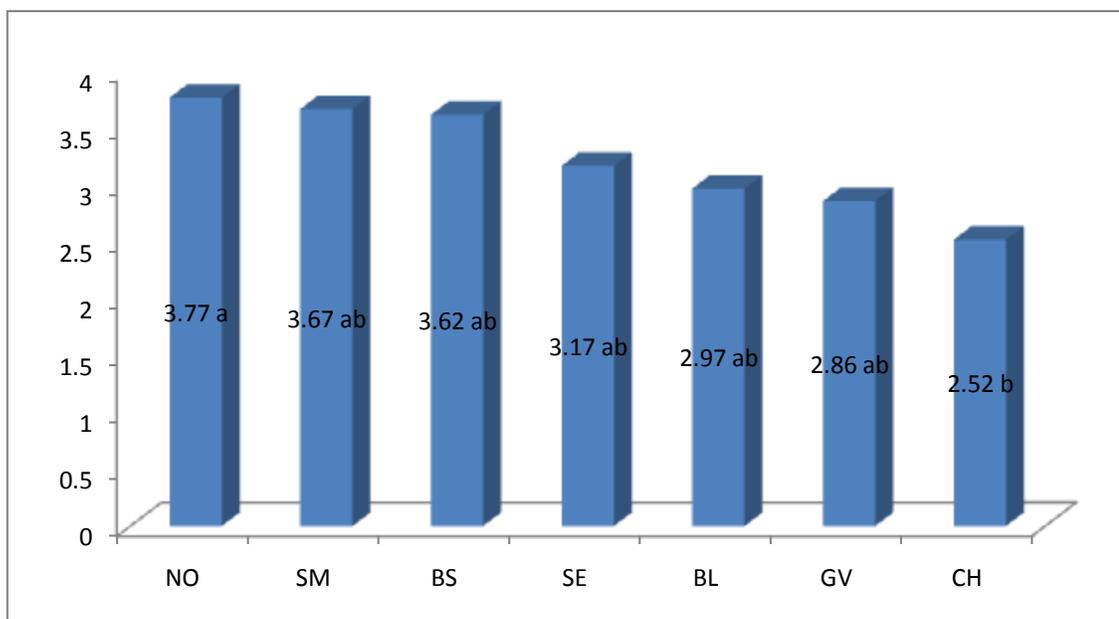


Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Brown Swiss (BS) perteneciente a la Fuente 2, fue el que mostró elevada cantidad o número de espermatozoides muertos al descongelado del semen bovino comercial en evaluación y mostró diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Wagyu (WA) que mostró menor cantidad de espermatozoides muertos al descongelado, siendo éste superior.

La causa del elevado porcentaje de espermatozoides muertos para el toro de la raza Brown Swiss (BS) se pudo producir por un manejo deficiente del semen congelado Menciona Selk, (2002), que una exposición a temperaturas elevadas causa daños irreversibles sobre las células espermáticas, una bajada del nivel de nitrógeno menciona Verano y col., (S/f), es perjudicial pues el semen sufre un golpe térmico. Pudiéndose como menciona Barth y col., (2007), la formación de cristales ocasionando ruptura mecánica de los elementos celulares del espermatozoide lo cual causa su muerte. Es total e irreversible, quedando comprobado que el semen de este toro sufrió dicho proceso pues obtuvo cero en motilidad espermática (gráfica III) y cero puntos en vigor espermático (gráfica V) al descongelado.

**Gráfica 18. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para el número de espermatozoides muertos (transformado logarítmicamente) al descongelado del semen bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Normando (NO) perteneciente a la Fuente 4, fue el que mostró mayor cantidad o número de espermatozoides muertos al descongelado del semen bovino en evaluación, teniendo diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Charoláis (CH).

Los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 4 mostraron una cantidad aceptable de espermatozoides muertos, menos del 30 por ciento al descongelado, sin embargo el toro de la raza Normando (NO) no alcanzó los niveles aceptables de espermatozoides normales o aptos al descongelado de 70 por ciento de células viables según menciona Catena y col., (1999); Barth y col., (2007), y que corresponden con las normas ISO 9002.

Un mal manejo del semen congelado menciona Selk, (2002), exposición a elevadas temperaturas y regresarlo al tanque, puede ocasionar al semen daño total e irreversible y afectar la fertilidad del mismo. Menciona de igual manera Verano y col., (S/f), que un mal cuidado del tanque, no llevándose los controles de relleno con nitrógeno, puede peligrosamente afectar la calidad del semen congelado pues sufre daño térmico.

El semen del toro Normando (NO) fue uno de los más evaluados (cinco pajuelas en total) corroborando en nuestra evaluación lo descrito por Verano y col., (S/f), un descuido en el relleno del tanque con nitrógeno puede serle fatal e irreversible para las células espermáticas.

Pudo darse como menciona Barth y col., (2007) formación de cristales por una descongelación lenta producto de una falta de nitrógeno, dañando mecánicamente los componentes celulares del espermatozoide ocasionando su muerte. Al ser mezclados

con eosina como menciona Bloom (1967) citado por Holy (1970), absorben la tintura tomando una coloración rojiza, lo cual fue muy contundente en nuestra evaluación.

**CUADRO XXII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS PRIMARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	40.58	5.79	1.92	0.0786
<b>Fuente (raza)</b>	17	132.40	7.78	2.58	0.0028
<b>Error</b>	72	217.35	3.01		
<b>Total</b>	96	399.23			

**CV: 66.94%**

Como resultado para las anomalías espermáticas primarias tenemos que no hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre las fuentes estudiadas. Sin embargo entre las fuentes anidadas en cada raza evaluada arrojó que si existió alta diferencia significativa ( $P < 0.01$ ) para las anomalías espermáticas primarias evaluadas, con un coeficiente de variación de 66.94 por ciento.

Las anomalías primarias, son de origen testicular, se producen durante el proceso de la espermatogénesis y en general son importantes ya que afectan seriamente la fertilidad, (Rodríguez, 1974; Spitzer, 2002).

Entre los defectos primarios más comunes observados se encuentran: espermatozoides de cabeza periforme, los cuales pueden deberse a hipoplasia o degeneración testicular; cabezas anormales sueltas; macro y microcefalia, debidas a divisiones nucleares anormales; cola abaxial, la cual se caracteriza porque la parte media no sale del centro de la cabeza; gota citoplasmática proximal, falta del tiempo necesario para su maduración; acrosoma encogido o doblado que afectan la fertilidad si aparece en más de un 20%, (Rodríguez, 1974; Tríbulo y col., 2006; Ruíz, 2007).

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas de las fuentes distribuidoras, para las anomalías espermáticas primarias tenemos que la Fuente 8 con una media de 3.87 fue la mayor y no tuvo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con todas las demás fuentes, las cuales entre sí tampoco difieren ( $P > 0.05$ ) estadísticamente según la prueba.

**CUADRO XXIII. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA LAS ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS PRIMARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados de las anomalías espermáticas primarias.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
8	3.87	a
4	3.30	a
5	3.25	a
3	2.72	a
1	2.25	a
2	2.13	a
6	0.75	a
7	0.75	a

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Para las patologías espermáticas primarias las fuentes evaluadas se mantuvieron dentro de los parámetros permitidos, no más del 20 por ciento de patologías espermáticas primaria, pues se afectaría seriamente la fertilidad del mismo, (Rodríguez, 1974; Tríbulo y col., 2006; Ruíz, 2007).

Este tipo no pueden compensarse según lo describe Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), al aumentar la concentración de la pajueta. Los espermatozoides con patologías espermáticas primarias o no compensables compiten con los espermatozoides normales por fecundar al ovocito. Si existieran dichas patologías en un eyaculado, por más que se disminuya la dilución y se mantenga alta concentración de espermatozoides por pajueta, existe alta probabilidad, que gran número de espermatozoides con patologías espermáticas primarias, lleguen a la vecindad del ovocito, lo fertilicen y activen el mecanismo contra la polispermia, dando como resultado un embrión de mala calidad viéndose afectada la fertilidad.

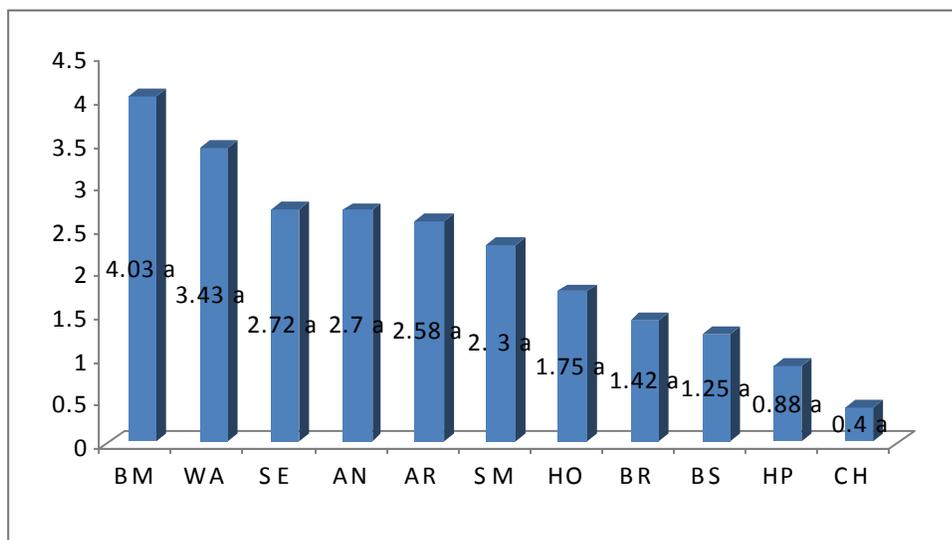
Muchas de estas patologías según menciona Derivaux, (1967), responden a carencias de aminoácidos esenciales, vitamina A, influencias ambientales adversas, enfermedades infecciosas de los testículos y glándulas accesorias, según describe Barth y col., (2007), y que coincide con Derivaux, (1967). Cualquier factor estresante (manejo, transporte, medio ambiente) puede repercutir con la aparición de patologías espermáticas.

Para las patologías espermáticas primarias menciona Ortavant (1959) citado por Holy (1970), la transformación de la espermatogonia de tipo A ha tipo Intermedio en la espermiogénesis, es una fase crítica donde, cualquier perturbación puede repercutir en la aparición de espermatozoides con dichas anormalidades.

La presencia de gotas citoplasmática proximal se encuentra regularmente en toros que son utilizados con frecuencia a cortos intervalos de tiempo, no dándole tiempo necesario al espermatozoide para madurar según menciona Derivaux, (1967); Holy (1970) y Barth y col., (2007). Además estos espermatozoides pueden perfectamente competir con los espermatozoides normales, desencadenar el mecanismo contra la polispermia y resultar en un embrión de mala calidad, lo cual no dará en una gestación satisfactoria.

Según menciona Catena y col., (1999), para las patologías espermáticas primarias, no debe encontrarse en la muestra más de un 20 por ciento de dichas patologías. De igual forma menciona Tríbulo y col., (2006), arriba de 20 por ciento se encuentra muy comprometida la fertilidad del semen. En nuestra evaluación las fuentes en estudio se mantuvieron muy por debajo del límite aceptable.

**Gráfica 19. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para las patologías espermáticas primarias del semen congelado bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

La gráfica anterior nos muestra que el toro de la raza Beef Master (BM) fue el que mostró mayor cantidad de patologías espermáticas primarias, pero éste no difirió significativamente ( $P > 0.05$ ) con los demás toros de las otras razas, las cuales entre sí tampoco difieren significativamente ( $P > 0.05$ )

Se encontró entre los toros de las razas evaluadas la presencia de patologías espermáticas primarias y estas se mantuvieron dentro de los rangos aceptables para el semen congelado bovino comercial, no más del 20 por ciento de

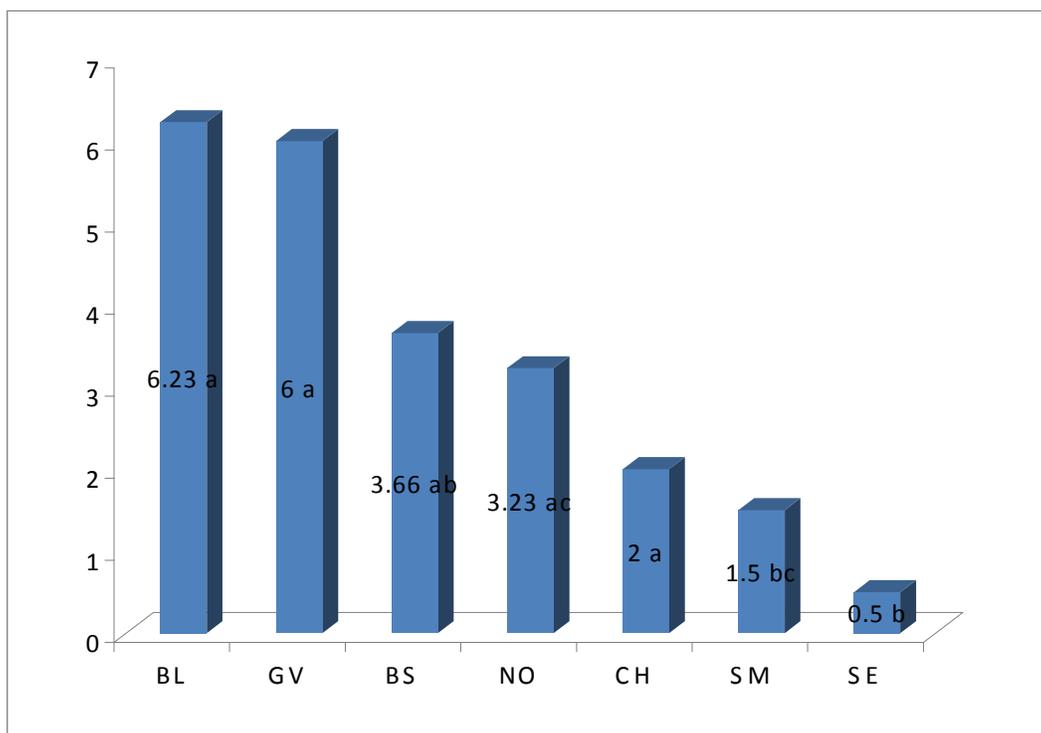
anormalidades espermáticas primarias, (Rodríguez, 1974; Tríbulo y col., 2006; Ruíz, 2007).

Los toros de las razas evaluadas se mantuvieron muy alejadas del mínimo recomendable, lo que nos indica que los toros se encuentran en óptimas condiciones de manejo y frecuencia de recolección por parte de las fuentes productoras, según menciona Barth y col., (2007), libres de infecciones testiculares o de las glándulas accesorias como dicta Derivaux, (1967). Además de encontrarse libre de cualquier estrés ambiental, nutricional o manejo como recalca Ortavant, (1959) citado por Holy, (1970).

Si se encontrara un porcentaje elevado de dichas patologías, aumentando la concentración como menciona Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), no se compensarían las patologías espermáticas primarias y el eyaculado mantendría un bajo porcentaje de fertilidad.

El toro de la raza Hereford (HP), que resulto con un elevado porcentaje de patologías primarias, no se ve comprometida su fertilidad pues se encuentra dentro de los rangos aceptables (menos del 20 por ciento de anormalidades) como menciona Catena y col., (1999), y que corresponden con las normas ISO 9002.

**Gráfica 20. Comparación de medias mínimas cuadradas de las patologías espermáticas primarias de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, del semen congelado bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

La gráfica anterior muestra que el toro de la raza Blonde D'Aquitaine (BL) mostró mayor cantidad de patologías espermáticas primarias, difiriendo significativamente ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Senepol (SE), el cual mostró tener menor cantidad de espermatozoides con patologías primarias.

Se encontró que los toros de la Fuente 4, a pesar de mostrar patologías espermáticas primarias, estos se mantuvieron dentro de los rangos aceptables

para las patologías espermáticas primarias, no más del 20 por ciento espermatozoides anormales, (Rodríguez, 1974; Tríbulo y col., 2006; Spitzer, 2002; Ruíz, 2007).

Según menciona Catena y col., (1999), la fertilidad del semen del toro Blonde D'Aquitaine (BL), no se ve comprometida pues se encuentra dentro de los rangos aceptables ( mayor de 20 por ciento de la muestra).

Si se buscara eliminar dichas patologías por el aumento de la concentración de la pajuela como menciona Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), no valdría de nada, pues estos espermatozoides tienen la capacidad de locomoción lo cual les permite competir con los espermatozoides normales.

**CUADRO XXIV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS DATOS DE ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS SECUNDARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO COMERCIAL EN EVALUACIÓN.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Fuente</b>	7	231.48	33.06	1.00	0.4410
<b>Fuente (raza)</b>	17	1844.30	108.48	3.27	0.0002
<b>Error</b>	72	2389.45	33.18		
<b>Total</b>	96	4471.11			

**CV: 51.36%**

El cuadro anterior muestra los resultados del estudio de las anomalías espermáticas secundarias entre las fuentes evaluadas arrojando que no se encontró significancia estadística ( $P > 0.05$ ). En cuanto al estudio entre las fuentes anidadas de cada raza tenemos que: si mostró alta significancia estadística ( $P < 0.01$ ) para las anomalías espermáticas secundarias, con un coeficiente de variación del 56.36 por ciento.

Las anomalías secundarias, ocurren después de que el espermatozoide salió del testículo y en general son de menor importancia, a menos que sean numerosos, estas no deben sobrepasar un 10 por ciento, (Ruíz, 2007).

Con la prueba de LSD para la comparación de medias corregidas de las fuentes distribuidoras, para las anomalías espermáticas secundarias muestra que la Fuente 8 con una media de 15.00 fue la mayor y no mostró diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con las demás fuentes comparadas, las cuales entre sí no difieren estadísticamente ( $P > 0.05$ ) según LSD mostrado en el cuadro siguiente.

**CUADRO XXV. COMPARACIONES DE MEDIAS CORREGIDAS PARA LAS ANORMALIDADES ESPERMÁTICAS SECUNDARIAS DEL SEMEN CONGELADO BOVINO EN EVALUACIÓN, SEGÚN PRUEBA DE LSD.**

<b>Fuente</b>	<b>Medias de mínimos cuadrados de las anomalías espermáticas secundarias.</b>	<b>Agrupamiento LSD</b>
8	15.00	a
4	11.68	a
2	11.35	a
1	10.70	a
7	10.50	a
6	8.00	a
3	7.16	a
5	5.50	a

Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

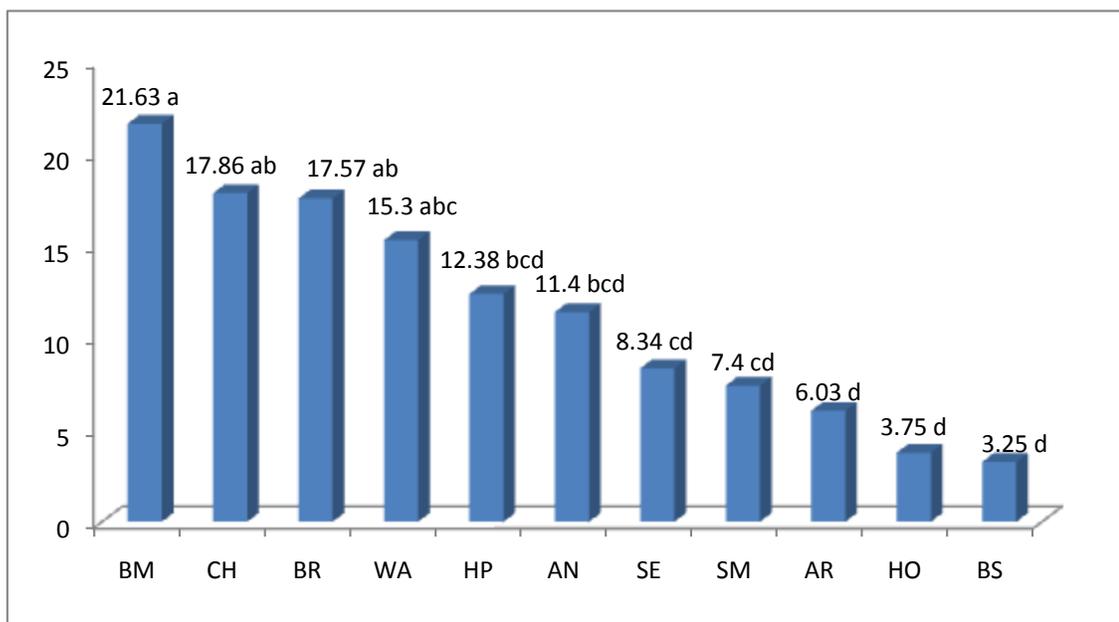
Las Fuentes evaluadas 3, 5 y 6 a pesar de mostrar anomalías espermáticas secundarias, estas se mantuvieron dentro de los rangos o normas establecidas, no más del 10 por ciento en la muestra, sin embargo las Fuentes evaluadas 1, 2, 4, 7 y 8 excedieron la norma para las patologías secundarias como: cabezas sueltas, gota distal, cabezas pequeñas anormales y cabezas anchas pequeñas y gigantes (piriformes), (Rodríguez, 1974; Spitzer, 2002; Ruíz, 2007).

Según menciona Catena y col., (1999), la muestra de semen no debe sobrepasar de un 30 por ciento de patologías totales (primarias y secundarias) criterio que corresponde con las normas ISO 9002. Estas se encuentran dentro de los límites aceptables y no se ve comprometida su fertilidad, aunque se encuentran fuera de los límites las fuentes evaluadas en patologías secundarias según menciona Spitzer, (2007).

Estas fuentes deben buscar compensar dichas patologías como lo describe Saacke y col., (1994) citado por Bó y col., (2008), que aumentando la concentración de la pajuela, dichas anomalías pueden ser compensadas y no verse afectada la fertilidad del semen y comercializar un semen más eficiente. Encontramos que algunas de las fuentes buscaron ajustar la concentración de la pajuela y compensar las patologías presentes en el eyaculado.

En nuestros análisis de datos se tomaron en cuenta los espermatozoides con colas dobladas, estas no deben ser tomadas para el promedio final del porcentaje de patologías totales, ya que estas pueden corresponder a errores en la tinción por la acción del extendido, o quizás a un golpe térmico u osmótico, produciendo en el espermatozoide doblado de la cola o parte caudal, por ello quizás fue que se dio un elevado porcentaje de espermatozoides con patologías secundarias.

**Gráfica 21. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 2, para las patologías espermáticas secundarias de la evaluación de semen congelado bovino.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

El toro de la raza Beef Master (BM) de la Fuente 2, fue el que presentó mayor cantidad de patologías espermáticas secundarias, difiriendo significativamente ( $P < 0.01$ ) con el toro de la raza Brown Swis (BS), el cual mostró menor cantidad de patologías espermáticas secundarias y difirió significativamente ( $P < 0.01$ ) con todos los demás toros de las razas evaluadas.

Aunque se presentaron patologías espermáticas secundarias entre los toros de las razas Senepol (SE), Simmental (SM), Angus Rojo (AR), Holstein (HO) y Brown Swiss (BS) estos cumplieron con la norma de no más del 10 por ciento de dichas anomalías. Los toros de las razas Beef Master (BM), Charoláis (CH), Brahaman (BR), Wagyu (WA), Hereford (HP) y Angus Negro excedieron los parámetros mínimos, no cumpliendo con lo estipulado según Ruíz, (2007).

Es común que las fuentes productoras como menciona Saacke y col., (1994) citado por Bó y col., (2008), comercialicen semen con presencia de anomalías espermáticas secundarias o compensables, pues son fácilmente enmascaradas con solo elevar la concentración de la pajueta. Dichas patologías no pueden competir con los espermatozoides normales, pues como menciona Holy (1970), para que el espermatozoides logre fertilizar el ovulo, es necesario que su cabeza donde está contenida la información genética se encuentre en perfecto estado, pero esta tarea solo puede ser realizada en dependencia de la función y constitución del sistema locomotor (cuello, parte intermedia y cola).

En la clasificación de espermatozoides con patologías espermáticas secundarias se encuentran en su mayoría a defectos de la cola, lo cual como menciona Holy, (1970), le son imposibles llegar a la vecindad del ovulo.

Debemos recalcar que defectos de la cola pueden deberse a errores en la tinción (golpe térmico y osmótico) también como presencia de cabezas sueltas,

aunque si aparecen en gran porcentaje pueden ser el resultado de un reposo sexual prolongado. Las células espermáticas sufren degeneración según menciona Derivaux, (1967), o se debe a un defecto producto de una mala termorregulación del testículo (toros gordos) según dicta Tribulo y col., (2006).

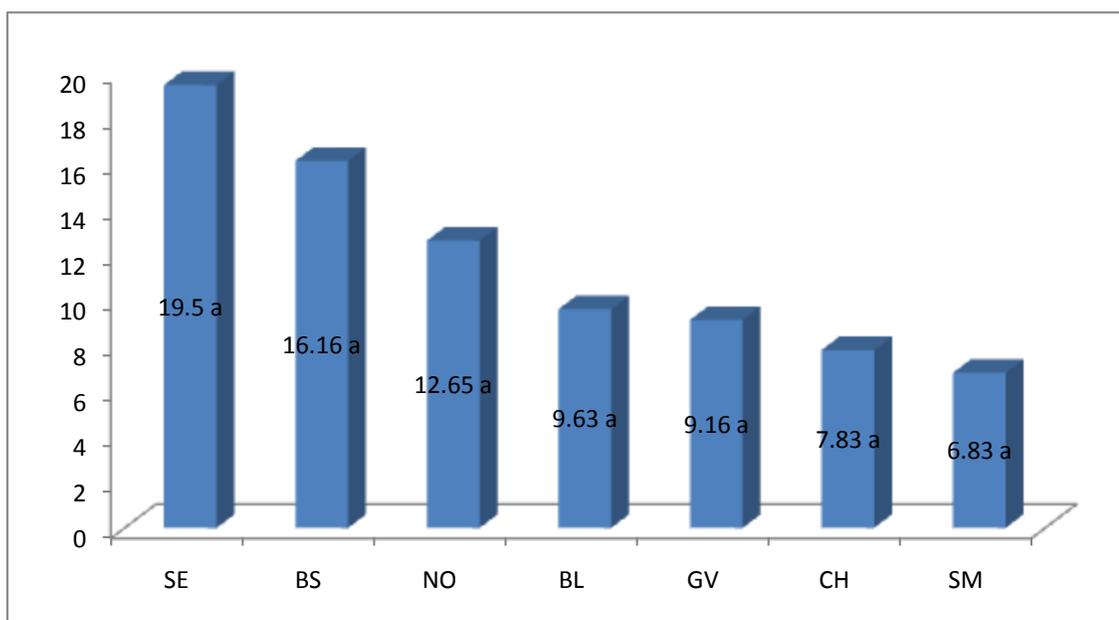
En nuestra evaluación y para efecto del análisis de los datos, estas anomalías fueron contadas en su totalidad (colas dobladas y cabezas sueltas) por ello quizás se vieron elevadas las cantidades de estas en ciertos toros. Sin embargo otros toros las tienen bien sumadas, como el caso del toro de la raza Brahaman (BR), donde se encontraron grandes cantidades de espermatozoides con colas dobladas, producto de una gota citoplasmática distal (anexo 1).

Al final seis toros para la Fuente 2, resultaron insatisfactorios para el porcentaje limite descrito por Ruíz, (2007), de no más del 10 por ciento en patologías espermáticas secundarias, pero según Catena y col., (1999), el total de patologías espermáticas (primarias y secundarias) de la muestra, no debe sobrepasar el 30 por ciento, pues se ve afectada la fertilidad del semen, con este criterio los toros de las razas de la Fuente 2 en nuestra evaluación, cumplen con las normas establecidas.

El semen del toro de la raza Wagyu (WA) obtuvo el primer lugar en concentración espermática (gráfica I) tal vez siguiendo lo propuesto por Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), en compensar dichas patologías y

comercializarlo, pues era lo único que desmeritaba el semen en mención, poseía excelente motilidad (gráfica III) y vigor al descongelado (gráfica V).

**Gráfica 22. Comparación de medias mínimas cuadradas de los toros de las razas pertenecientes a la Fuente 4, para las patologías espermáticas secundarias del semen congelado bovino en evaluación.**



Medias seguidas por la misma letra minúscula no difieren según la prueba LSD, modificada generada por la matriz de valores "P" (p-values).

Como se muestra en la gráfica, el toro de la raza Senepol (SE) de la Fuente 4, fue la que mostró mayor cantidad de patologías espermáticas Secundarias y no difirió estadísticamente ( $P > 0.05$ ) con los demás toros de las razas, las cuales entre sí tampoco difieren estadísticamente ( $P > 0.05$ ).

Los toros de las razas Blonde D'Aquitaine (BL), Gelbvieh (GV), Charoláis (CH) y Simmental (SM) evaluados para las patologías espermáticas secundarias pertenecientes a la Fuente 4, se mantuvieron dentro de los parámetros aceptables dictados para el semen congelado bovino comercial de no más del 10 por ciento en dichas anomalías, excepto los toros de las razas Senepol (SE), Brown Swiss (BS) y Normando (NO) que no cumplieron con lo estipulado según Ruíz, (2007).

Solo cuatro de los siete toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 4 para las patologías espermáticas secundarias según dicta Ruíz, (2007), cumplieron con no más del 10 por ciento de dichas patologías de la muestra. Pero según menciona Catena y col., (1999), y que corresponden con las normas ISO 9002, la muestra puede contener en patologías espermáticas totales (primarias y secundarias) no más del 30 por ciento, arriba de esto, se ve comprometida la fertilidad del semen.

Por parte de las normas ISO 9002, los toros de las razas evaluadas dentro de la Fuente 4, cumplieron con lo establecido y no se ve comprometida su fertilidad.

Las patologías espermáticas secundarias pueden ser compensadas según menciona Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), con elevar la concentración de la pajueta, y esto quedo evidenciado una vez más, en nuestra evaluación encontramos que la fuente productora de semen tomo muy en serio este criterio. Como se muestra en la gráfica XII, el número de espermatozoides con motilidad progresiva al descongelado, se encuentra arriba de ocho millones, y que corresponde a los

espermatozoides normales, cantidad necesaria que Catena y col., (1999), recomienda, para garantizar la fecundación del ovulo. Número que puede ser reducido si el semen posee excelente motilidad (mayor de 40 por ciento), un vigor espermático de cuatro puntos y un reducido número de patologías totales que de igual manera menciona Verano y col., (S/f), en base a sus estudios.

Las patologías secundarias se producen una vez el espermatozoide salió del testículo según menciona Ruíz, (2007), pero también puede ser producto de un mal manejo del semen en el laboratorio (golpe térmico u osmótico) puede causar la aparición de colas dobladas y quizás por ellos se dio una alta presentación de las mismas en algunos toros. Sin embargo el toro de la raza Senepol (SE) si mostró elevada cantidad de espermatozoides con pieza intermedia doblada como se muestra en el anexo III, pero dicha patología fue compensada según lo descrito por Saacke y col., (1994) citados por Bó y col., (2008), el semen de este toro obtuvo el primer lugar en concentración espermática (gráfica II), además de una muy buena motilidad al descongelado (gráfica IV). Sumado a un buen vigor espermático (gráfica VI), lo cual permite a la fuente productora buscar la manera o método para aprovechar y comercializar el semen de dicho toro muy cotizado y usado en nuestras ganaderías de carne.

En general encontramos que las Fuentes se ajustan a los criterios mínimos sobre la calidad espermática, algunas Fuentes se encontraron muy cercanas a los límites aceptables. Aunque podemos decir que estas pruebas no pueden ser tomadas para cuestionar las fuentes distribuidoras de semen comercial puesto que el semen evaluado

ya se encontraba en tanques manejados de diferentes maneras. Excepto para las anomalías y la concentración espermática.

Los toros de las razas evaluadas en su mayoría cumplieron con los criterios mínimos aceptables para las diferentes pruebas realizadas, aunque se encontraron que algunos toros no cumplieron con los mínimos requeridos para ser aceptados, entre estas tenemos las anomalías espermáticas secundarias según Ruíz, (2007), donde algunos toros sobrepasaron el límite establecido, lo cual se ve afectada la fertilidad del semen, pero según menciona Catena y col., (1999), y que corresponde con las normas ISO 9002, si no se sobrepasa el 30 por ciento de anomalías espermáticas totales no se ve comprometida la fertilidad.

Para el número de espermatozoides vivos se encontraron porcentajes por debajo de lo aceptable, arriba del 70 por ciento de espermatozoides viables o aptos según Catena y col., (1999), y que corresponden con las normas ISO 9002, producto tal vez de un mal manejo del semen congelado como menciona Verano y col., (S/f), (descuido en el relleno con nitrógeno) y en nuestra evaluación quedó evidenciado con el caso del toro Normando (NO); o por factores intrínsecos del semen como menciona Selk, (2002), por efectos del congelado descongelado como dicta Bó y col., (2008), donde toros de excelente calidad al descongelado resulta en semen de baja o mala calidad y lo ratifica Decuadro-Hansen, (2004), en sus estudios.

#### IV. CONCLUSIONES

Basándonos en los resultados obtenidos en nuestro trabajo, llegamos a las siguientes conclusiones:

1. No se evidenciaron, diferencias o variaciones entre las casas comerciales estudiadas en cuanto a viabilidad espermática y morfológica después de la descongelación.
2. A pesar de que si existen, diferencias en los resultados del número de espermatozoides con motilidad progresiva entre los eyaculados comercializados por las diferentes casas comerciales.
3. Las razas fue uno de los factores que se evidenció como uno de los que más afectó los resultados de calidad seminal, independientemente de las causas, los comercializan y se pudo apreciar en parámetros tales como viabilidad espermática, morfología espermática y número de espermatozoides con motilidad progresiva post descongelación.

## V. RECOMENDACIONES

Continuar con los estudios para verificar la viabilidad post descongelación sobre el semen a utilizar en los diferentes programas de mejora genética.

Realizar pruebas de calidad espermática post descongelación de semen bovino comercial a una mayor escala y contar con un estudio representativo a nivel nacional.

Estandarizar dichas pruebas para que los estamentos pecuarios del gobierno las adopten como norma de calidad al semen que es importado y producido en nuestro país.

Exigir a las fuentes distribuidoras de semen comercial al momento de la compra de un volumen medio o alto, pruebas sobre el control de la calidad espermática de acuerdo a las Normas ISO 9002.

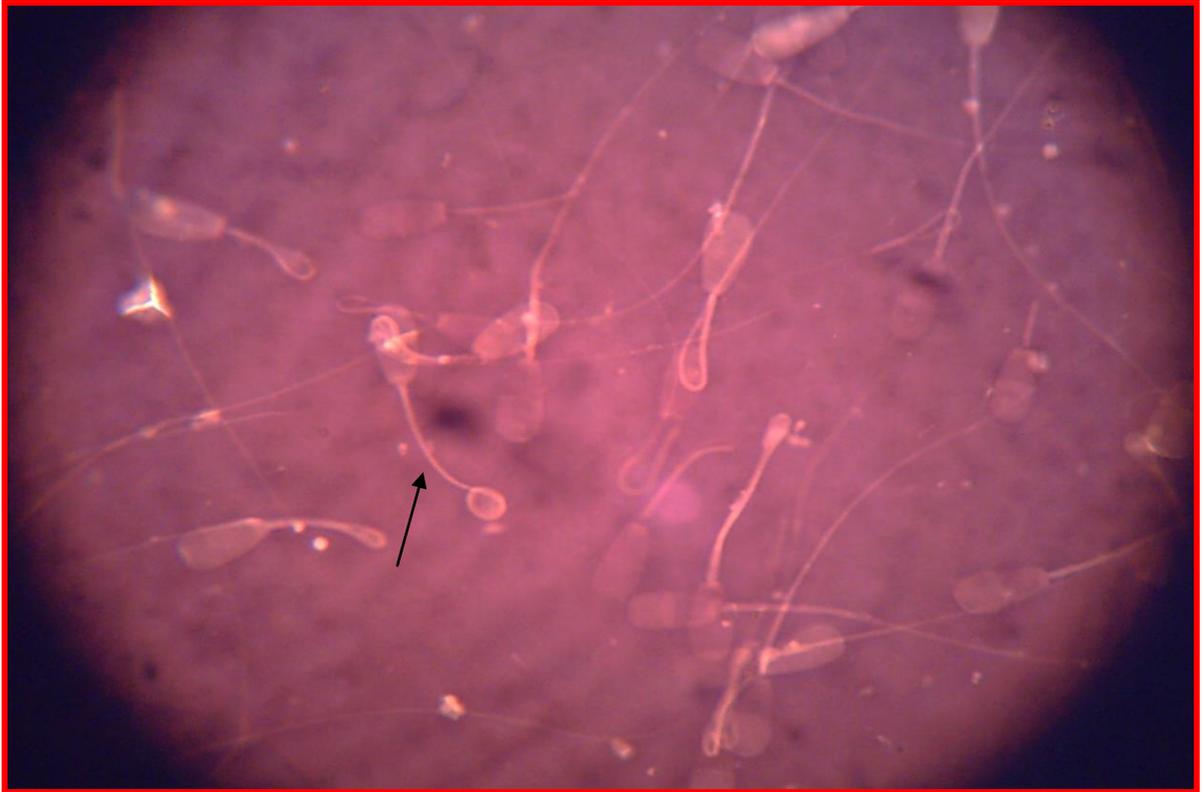
Analizar la calidad del semen congelado bovino en campo basado con la tasa de no retorno (TNR).

## VI. REFERENCIAS CITADAS

- Barth, A. D.** 1994. Evaluación de semen congelado. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. Manual del Primer Curso de Evaluación de Semen. 74p.
- Barth, A., Bó, G., Brogliatti, G., Tríbulo, H.** 2007. Fisiología de la Reproducción del Toro y Evaluación de la Aptitud Reproductiva. Córdoba, Argentina: Editor IRAC. 170p
- Bó, G., Tríbulo H., Cutaia, L.** 2008. Sincronización de Celos e Inseminación Artificial. Córdoba, Argentina: Editor IRAC. 173p
- Catena M., Cabodevila J.** 1999. Evaluación de Semen Bovino Congelado. (En línea). Tandil, Argentina. Consultado 23 Septiembre 2007. Disponible en: [www.produccionbovina.com/.../inseminacion\\_artificial/05-evaluacion\\_de\\_semen\\_bovino\\_congelado.htm](http://www.produccionbovina.com/.../inseminacion_artificial/05-evaluacion_de_semen_bovino_congelado.htm)
- Cole, H. H., Cupps, P. T.** 1984. Reproducción de los animales domésticos. 3<sup>o</sup> Edición. Zaragoza, España: Editorial ACRIBIA S. A. 551p.
- Derivaux J.** 1967. Fisiopatología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Animales Domésticos. La Habana, Cuba: Edición Revolucionaria. 416p.
- Decuadro-Hansen, G.** 2004. Fertilidad de los toros de inseminación artificial, algunos factores de variación. (En línea) L'Aigle, Francia. Consultado: 3 de febrero 2008. Disponible en: [www.panalimentos.org/panvet2004/speakers'%20abstracts/Panvet.doc](http://www.panalimentos.org/panvet2004/speakers'%20abstracts/Panvet.doc)
- Ensminger, B.** 1965. Beef Cattle Science. 3th Edition. Illinois, USA: INTERSTATE. 822p
- Fortín, M. R.** 1998. Evaluación del semen comercial al descongelado. Argentina. Resúmenes Cuartas Jornadas Nacionales CABÍA y Primeras del MERCOSUR. 159p.
- Hafez E. S.** 1996. Reproducción e inseminación artificial de los animales domésticos. México: 2<sup>o</sup> Edición Mc Graw-Hill. 694p.
- Holy, L.** 1970. Biología de la Reproducción Bovina. La Habana, Cuba: Edición Revolucionaria. 454p

- Mela G., M. E.** 2006. Efecto del tiempo de estabilización (Refrigeración) y congelación (vapor de nitrógeno) en la Calidad Espermática post descongelación. Tesis Lic. Ing. Agr. Zootecnista. Chiriquí, Panamá. Universidad de Panamá Facultad de Ciencias Agropecuarias. 97p.
- Rodríguez, U.** 1974. Inseminación Artificial. Habana, Cuba: Editorial Pueblo y Educación. 320p.
- Ruíz H. H.** 2007. Valoración de la Capacidad Reproductiva de los Sementales Bovinos en los Grupos GGAVATT´S y Asociaciones. (En línea) México, Chiapas. Consultado: 20 de marzo 2008. Disponible en: [http://producechiapas.org/index.php?option=com\\_content&task=view&id=17&Itemid=29](http://producechiapas.org/index.php?option=com_content&task=view&id=17&Itemid=29)
- Salisbury G. W. and VanDenmark, N. L.** 1961. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. Illinois, United State of America: Freeman and Company. 639p.
- Samaniego M. N.** 2006. Evaluación de tres diluyentes para la crío Preservación de espermatozoides de semen bovino. Tesis Lic. Ing. Agr. Zootecnista. Chiriquí, Panamá. Universidad de Panamá Facultad de Ciencias Agropecuarias Departamento de Zootecnia. 118p.
- Selk, G.** 2002. Artificial Insemination for Beef Cattle. (En línea) Oklahoma, United State of America. Consultado 21 octubre 2007. Disponible en: [www.thebeefsite.com/articles721artificial-insemination-for-beef-cattle](http://www.thebeefsite.com/articles721artificial-insemination-for-beef-cattle)
- Sorensen, A. M.** 1982. Reproducción Animal. México: Mc Graw-Hill. 539p.
- Spitzer J.C.** 2002. Evaluación de la calidad reproductiva del toro. (En línea) Bogotá, Colombia. Consultado 3 de marzo 2008. Disponible en: [http://www.produccionbovina.com.ar/informacion\\_tecnica/cria\\_toros/00-cria\\_toros.htm](http://www.produccionbovina.com.ar/informacion_tecnica/cria_toros/00-cria_toros.htm)
- Tríbulo H., Bó, G., Brogliatti, G.** 2006. Evaluación de toros y Calidad seminal. Córdoba Argentina. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). 120p.
- Verano, Ma., Migliorisi A.** S/f. Protocolo para la Evaluación de Semen en Rumiantes. (En línea) Argentina. Consultado 2 de octubre 2007. Disponible en: [www.fcv.unlp.edu.ar/sitios-catedras/8/material/ProtocoloEval.Semen.pdf](http://www.fcv.unlp.edu.ar/sitios-catedras/8/material/ProtocoloEval.Semen.pdf)
- Villee, C.** 1968. Biología. 5º Edición. México: Nueva Editorial Interamericana. 688p.

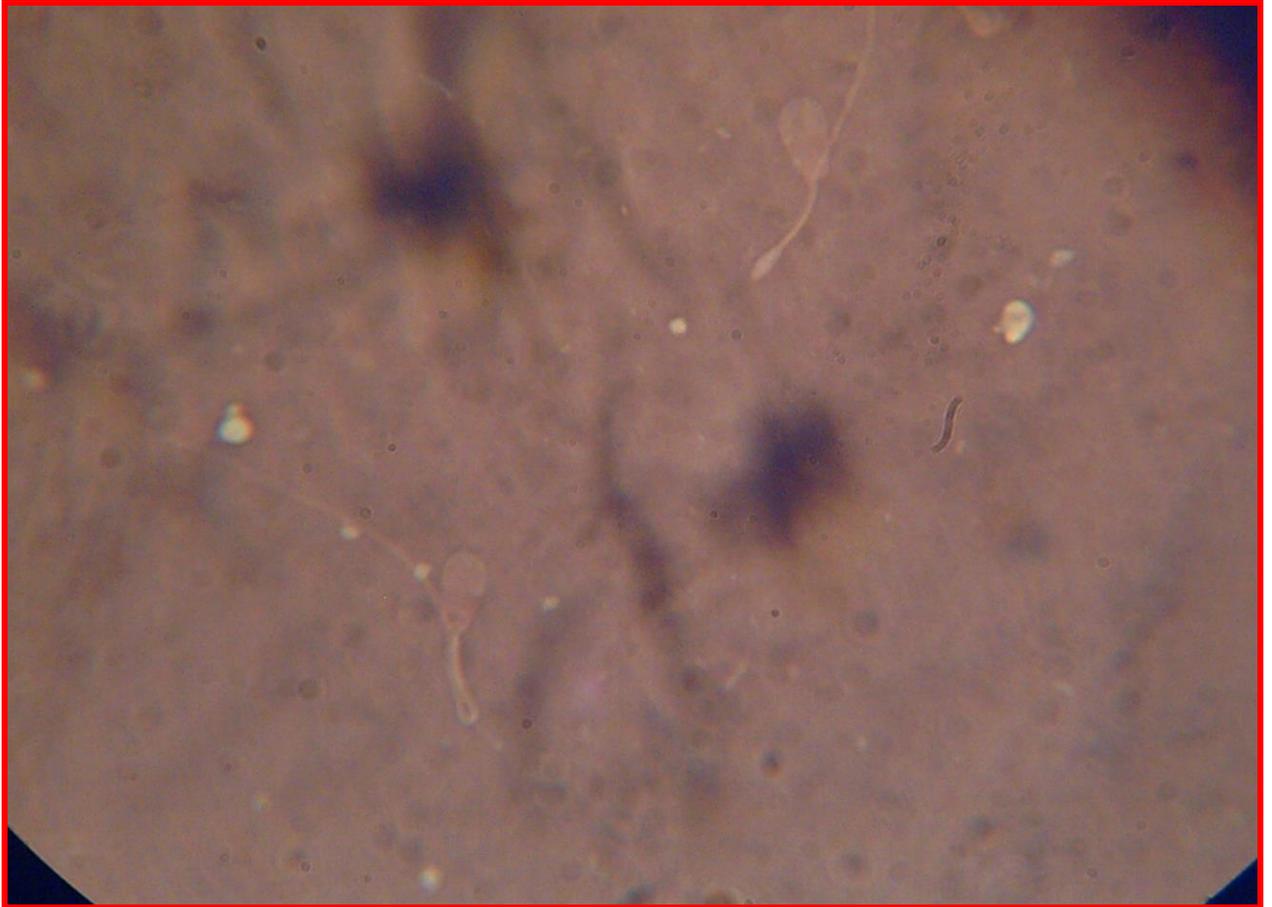
## VIII. ANEXOS



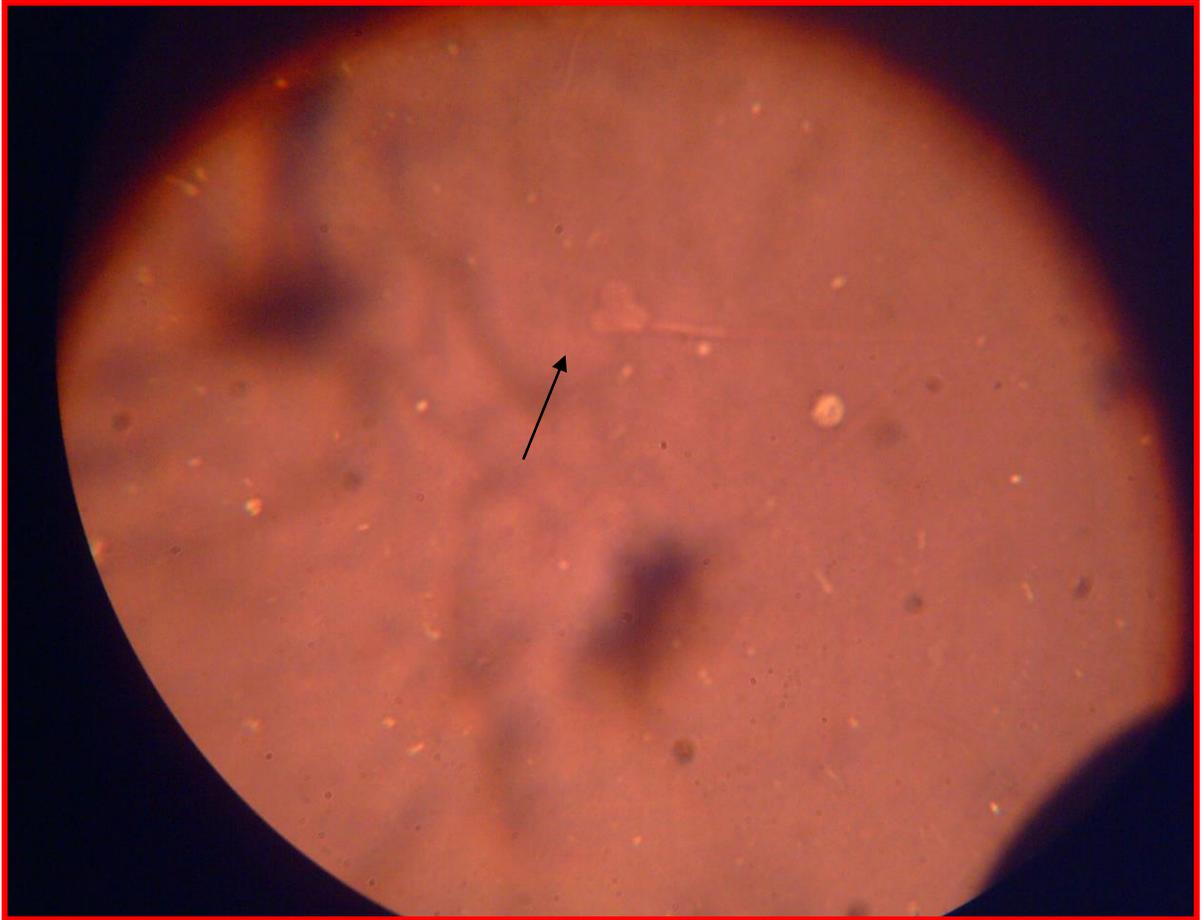
Anexo 1. Espermatozoides con cola doblada, el señalado muestra gota citoplasmática distal provocando enrollado de la cola toro de la raza Brahaman (BR) perteneciente a la Fuente 2 (aumento 100x).



**Anexo 2. Espermatozoide con cola enrollada (aumento 100x)**



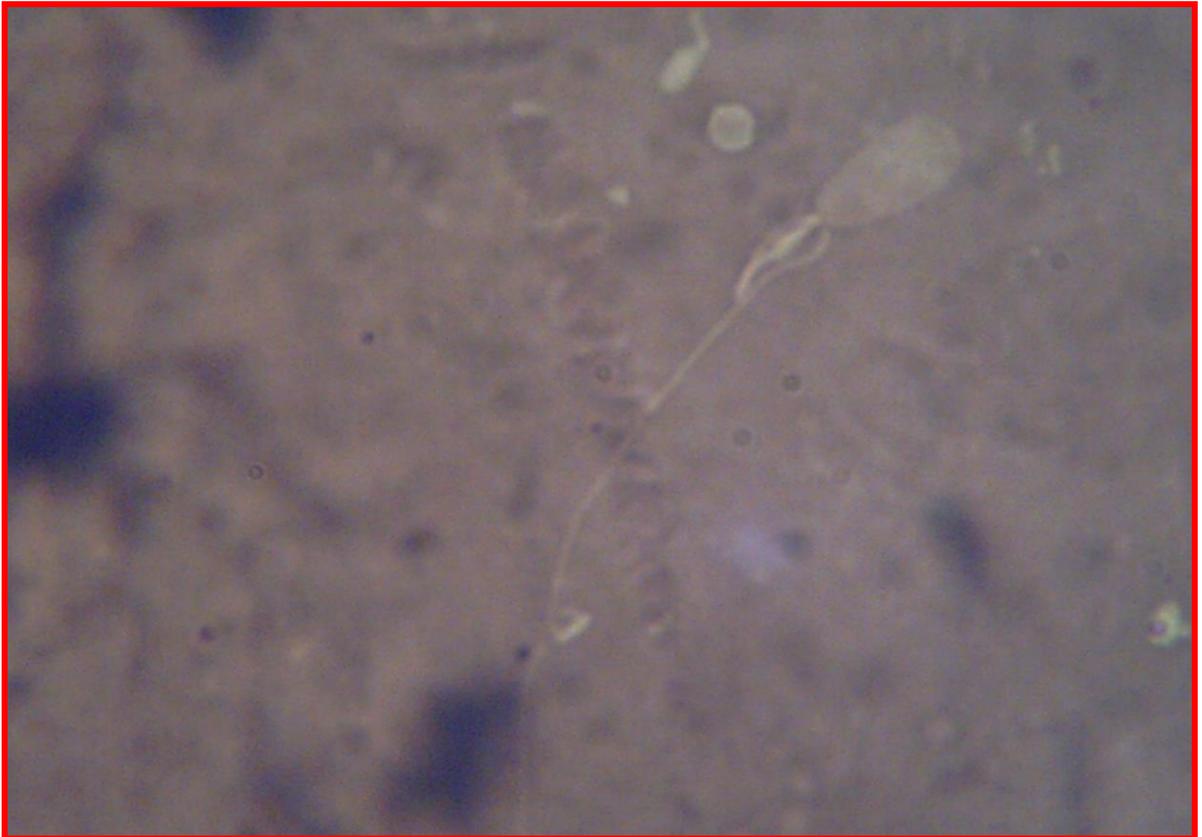
**Anexo 3. Espermatozoides con pieza intermedia doblada (aumento 100x) toro de la raza Senepol (SE) perteneciente a la Fuente 4.**



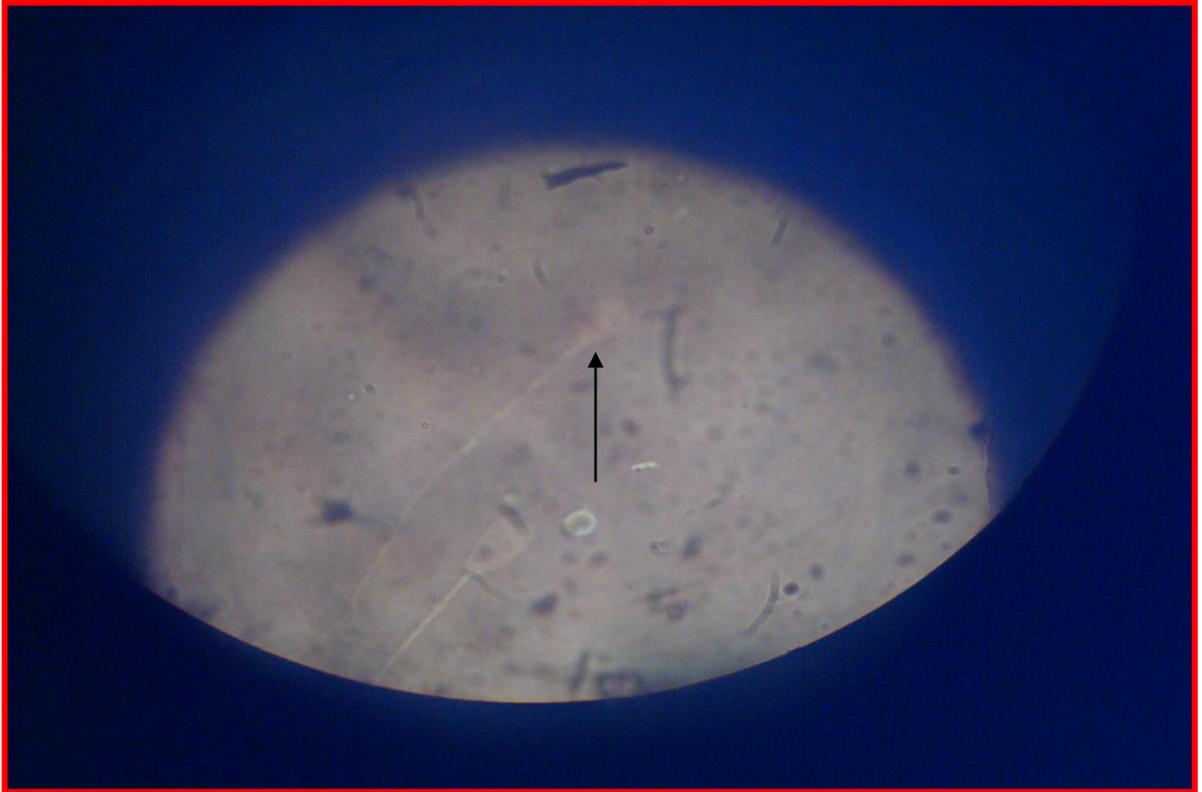
Anexo 4. Espermatozoide con cabeza amorfa (aumento 100x).



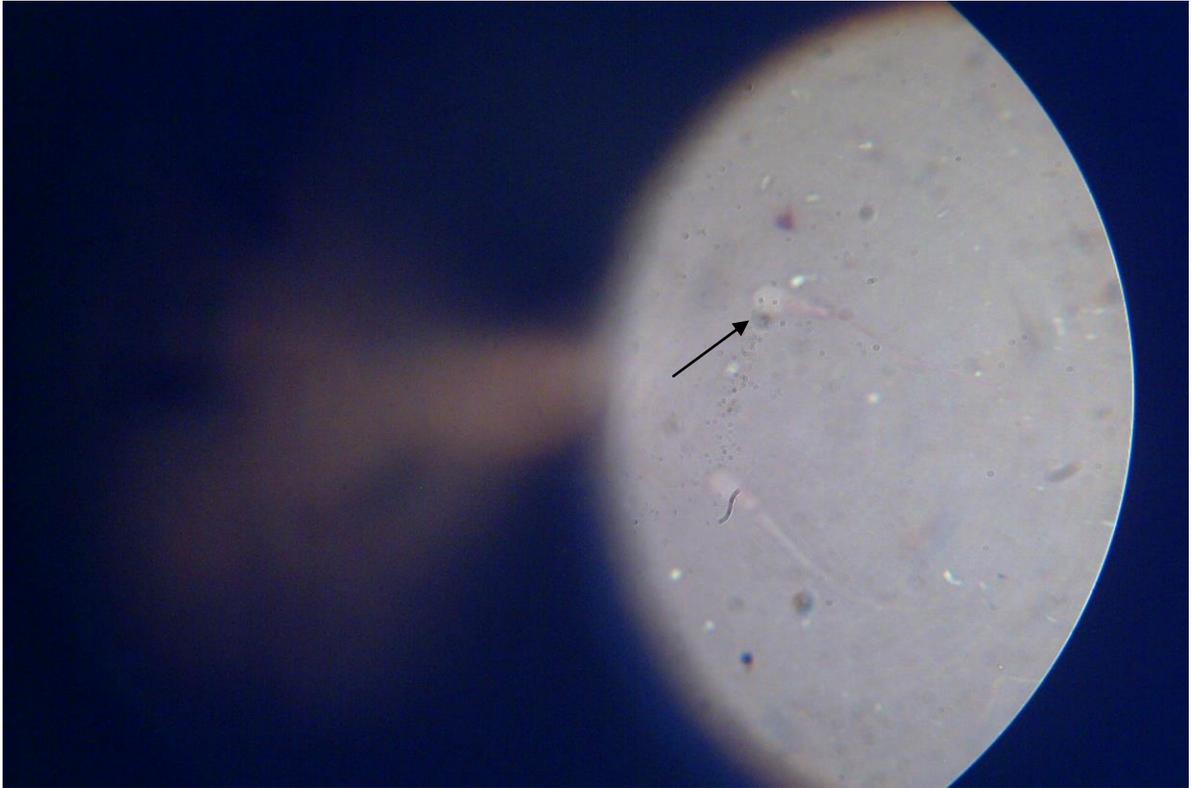
**Anexo 5. Espermatozoide con cola fuertemente enrollada (aumento 100x).**



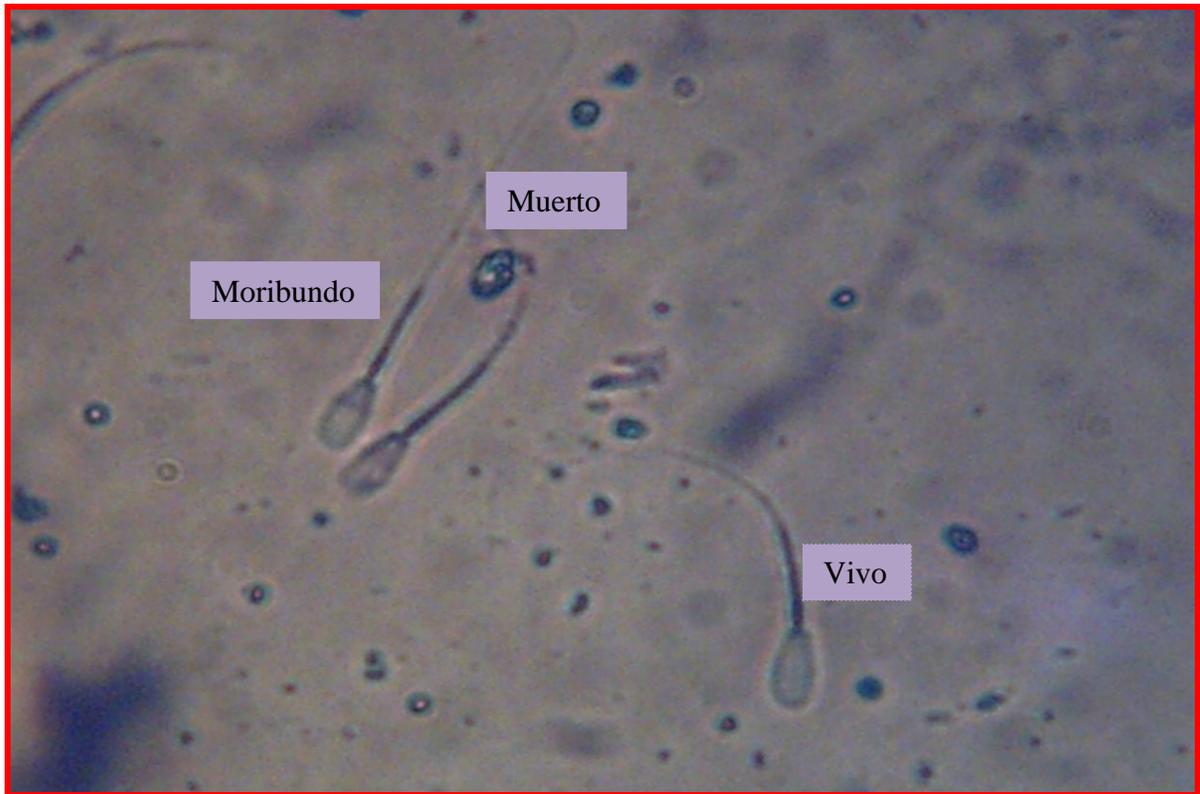
**Anexo 6. Espermatozoide con cola accesorio o múltiple (aumento 100x).**



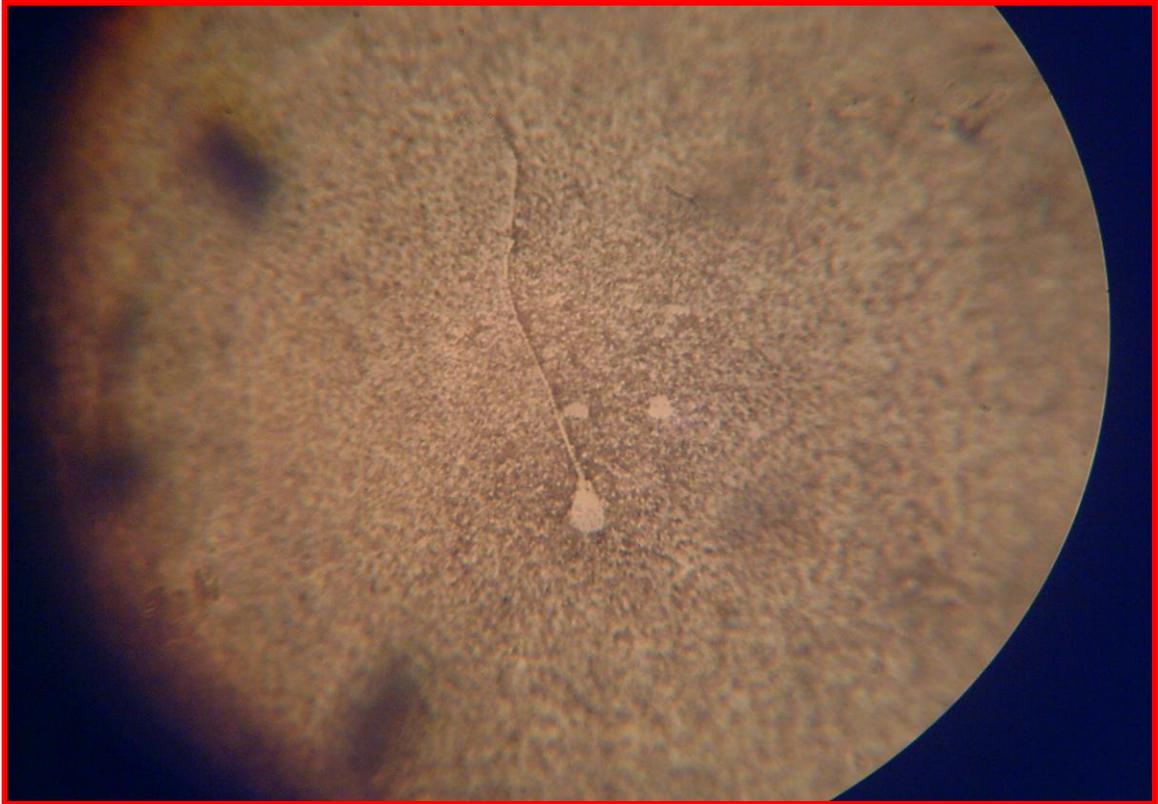
**Anexo 7. Espermatozoide con microcefalia (piriforme).**



**Anexo 8. Espermatozoide con macrocefalia (cabeza grande, 100x)**



**Anexo 9. Tinción con Eosina y Nigrosina para determinar vivos y muertos (aumento 100x)**



**Anexo 10. Espermatozoide bovino normal, tinción con tinta China (aumento 100x).**